



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA
MADRID, ESPAÑA

**Evolución y Comportamiento de la Respuesta Cardiovascular y
Hematológica en Hipoxia Hipobárica Intermitente Crónica e
Hipoxia Crónica, en Gran Altura**

Tesis Doctoral

Doctorado en Medicina Preventiva y Salud Pública

Doctorando: Patricia Siqués Lee

Director de Tesis: Prof. Dr. Rafael Herruzo Cabrera

Madrid- 2007

A mi esposo

A mis maestros

Este trabajo ha sido financiado por el Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto y la Universidad Arturo Prat, de Iquique, Chile. Patricia Siques Lee, ha disfrutado de una Beca Doctoral en el Proyecto Regional, de la Comisión Nacional de Investigación, Ciencia y Tecnología de Chile, a través del, Centro de Investigación del Hombre en el desierto.

AGRADECIMIENTOS

1. Al Director de la Tesis, Prof. Dr. Rafael Herruzo Cabrera, por sus enseñanzas, por su cálida y generosa acogida, por su guía durante todo el proceso del doctorado, y por sus siempre oportunas, clarificadoras e inestimables contribuciones
2. Al Director del Departamento, Prof. Dr. Fernando Rodríguez Artalejo, por su cálida acogida y sus valiosas enseñanzas.
3. Al Prof. Sr. Juan José De la Cruz, por su inagotable apoyo y contribución a esta Tesis, con un trabajo estadístico de excelencia y por su generosidad y elevado espíritu docente.
4. A la Prof. Dra. Fabiola León-Velarde, por su generosidad, apoyo humano y guía científico incondicional, de siempre.
5. Al Prof. Dr. José Ramón Banegas, por su generosidad, apoyo y aportaciones.
6. A todos los profesores del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, de la Universidad Autónoma de Madrid, que han contribuido con sus enseñanzas, para poder alcanzar un mejor desarrollo personal tanto en lo humano como en lo científico.

7. A la secretaria del Doctorado, Sra. Milagros Santos Santos y a la secretaria del Departamento, Sra. María Ángeles Moratilla Fernández, por su apoyo y consejos.
8. A nuestros compañeros del doctorado, que no solo han hecho muy grata esta experiencia lejos de nuestra patria, sino que también nos han permitido forjar nuevas amistades.
9. A la Universidad Arturo Prat, alma mater, que nos ha brindado la oportunidad de participar en este doctorado.
10. A la Comisión Chilena de Ciencia y Tecnología, que a través de su proyecto regional “Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto”, ha brindado el soporte económico que permitiera la realización de este doctorado
11. A mi esposo, Julio, por acompañarme en esta aventura, por todo su apoyo, comprensión y compañía, quien ha sido además un colaborador inestimable en estos trabajos y que sin su ayuda esto no habría sido posible.
12. A nuestras familias, que han aportado su comprensión, paciencia, apoyo en las circunstancias difíciles y el calor del hogar durante esta etapa.
13. A todos aquellos, que este folio no alcanza a cubrir, pero que han sido parte importante y a veces fundamental de nuestras vidas en Chile y España, durante estos agradables y enriquecedores años.

Índice General

Índice

Contenido	Nº Página
1. Introducción General	01
2. Planteamiento y Objetivos	11
2.1. Planteamiento	12
2.2. Objetivos	13
3. Historia Natural de la Respuesta Cardiovascular y Hematológica en Ratas Expuestas a Hipoxia Hipobárica Intermitente Crónica a Gran Altura.	15
3.1. Introducción	16
3.2. Materiales y Métodos	18
3.3. Resultados	21
3.4. Discusión	26
4. Exposición a Hipoxia Intermitente Crónica en Gran Altura durante más de 12 años: Evaluación de los Efectos Hematológicos y Cardiovasculares.	34
4.1. Introducción	35
4.2. Materiales y Métodos	36
4.3. Resultados	40
4.4. Discusión	45
5. Cambios Hematológicos y de Perfil Lipídico en Nativos de Nivel de Mar Expuestos por Primera Vez a 3550 m de Altura por 8 Meses	52

5.1. Introducción	53
5.2. Materiales y Métodos	55
5.3. Resultados	58
5.4. Discusión	64
6. Discusión General	74
7. Conclusiones	90
7.1. Conclusiones respecto al Objetivo 1	91
7.2. Conclusiones respecto al Objetivo 2	92
7.3. Conclusiones respecto al Objetivo 3	93
8. Bibliografía	94
9. Resumen	106
9.1. Resumen del Objetivo 1	107
9.2. Resumen del Objetivo 2	109
9.3. Resumen del Objetivo 3	111
10. Índice de Índice de Tablas y Figuras	113
11. Apéndice: Publicaciones realizadas a partir de los resultados	117

1. Introducción General

1. Introducción General

1.1. Exposición a altura

La condición biológica de exposición a la altura, es definida como una condición del medio ambiente que se caracteriza fundamentalmente por una disminución de la presión de oxígeno ambiental, como producto de la disminución de la presión barométrica o atmosférica, que disminuye de manera exponencial en función de la altura, de modo que a nivel del mar la presión barométrica es de 760 milímetros de mercurio (mm Hg), mientras que a 4600 m es de solo 412 mm Hg.

Las primeras descripciones de las molestias encontradas por el hombre en la altura en el continente Americano y su relación con la elevación terrestre, son las del insigne jesuita español, Padre José de Acosta, que acompañaba a los soldados españoles durante la conquista de América, José de Acosta describió el Mal Agudo de las Montañas, en su libro Historia Natural y Moral de las Indias (1590), relatando que a esas alturas el “aire era delicado y sutil” y no se ajustaba al requerimiento del hombre que lo necesitaba “más grueso y más atemperado”. Innumerables comunicaciones e investigaciones se han desarrollado desde ese entonces en este campo, habiéndose avanzado en forma importante en el conocimiento, pero si se considera que cada día más personas, se encuentran expuestas a condiciones de hipoxia, ya sea en forma aguda o crónica, los cambios de las poblaciones que viven en altura respecto a sus regimenes de exposición y que la hipoxia es un factor común de

enfermedades tan frecuentes como la apnea obstructiva del sueño, aún quedan considerables áreas con respuestas inconclusas o sin investigar.

La atmósfera esta compuesta en gran medida de oxígeno (O_2), nitrógeno, gas carbónico y agua, encontrándose el O_2 en una proporción de 21% cualquiera sea la altura. Dado que la presión de O_2 se obtiene multiplicando la presión barométrica por la fracción de oxígeno en el aire (0.21) la disminución de la presión de O_2 en la altura es proporcional a la caída de la presión atmosférica. La disminución de la presión parcial de los gases tiene varios efectos en la homeostasis de los individuos. En primer lugar la generación de una hipoxia y en segundo lugar la distensión de los gases (ley de Boyle).

La hipoxia es en ultimo termino una disminución del abastecimiento de oxígeno a nivel celular, que altera el metabolismo y la producción de energía en los organismos aeróbicos. Se conocen diferentes clases de hipoxia, dependiendo su clasificación del tipo de causa:

- Hipoxia hipóxica (disminución de la cantidad o de la presión del O_2 , y en el caso de la hipobaria por menor presión atmosférica)
- Hipoxia por estancamiento (por disminución del flujo)
- Hipoxia hipémica (disminución del transportador)
- Hipoxia histotóxica (interferencia por drogas)

La hipoxia hipobárica por menor presión atmosférica, se genera por la disminución parcial de la presión de O_2 inspirado en el ambiente, ya que por no existir la fuerza necesaria para una adecuada presión alveolar (ley de Henry y de la difusión de los gases), se produce como consecuencia una disminución de la cantidad de oxígeno que es transportado por la sangre a todas las células del organismo. Es así que a nivel del mar la hemoglobina se satura de oxígeno entre un 95% a un 99% y en alturas como a 3800 m disminuye a una saturación de un 90% (Monge y León- Velarde, 2003). Por tanto los efectos y las repercusiones en el organismo, dependerán fundamentalmente del nivel de altura a que se expone el sujeto.

Cuando el organismo humano es sometido a una exposición a la altura, o condición de hipoxia debido a la disminución de la presión de O_2 , se ponen en marcha mecanismos fisiológicos dirigidos a regular la caída de la presión arterial de oxígeno, mecanismos reguladores que tienen como objetivo evitar la perturbación del equilibrio del medio interno, conocido como proceso de aclimatación, y la eficiencia de estos sistemas reguladores presenta variaciones entre los individuos.

La aclimatación es un proceso fisiológico que en su fase inicial, se caracteriza por una importante respuesta simpática y de los quimiorreceptores del cuerpo carotídeo, produciendo fundamentalmente un aumento de la frecuencia respiratoria, un incremento de la frecuencia cardíaca y una elevación de la presión arterial, para asegurar el transporte de oxígeno hacia las células, junto a manifestaciones a nivel de sistemas y a nivel celular, que en su fase

tardía se caracteriza por un incremento de glóbulos rojos en la sangre. Estos cambios tienen variaciones entre los individuos y en algunos de ellos pueden producirse también alteraciones patológicas, encontrándose descrito como una mala adaptación en el periodo de exposición aguda, a la enfermedad aguda de montaña (EAM), que puede ir desde su forma mas leve (cefalea mas algún otro síntoma: nauseas, vómitos, mareos y dificultad para dormir) hasta su forma mas grave que es el edema agudo de pulmón y el edema cerebral e incluso la muerte. En los expuestos en forma crónica ya sea residentes habituales o nativos, se describen como patologías características de esta condición: el mal crónico de montaña o enfermedad de Monge (policitemia) y la hipertensión pulmonar de altura (Monge y León- Velarde, 2003; León- Velarde et al., 2005).

1.2. Clasificación de exposición a la altura

La exposición a la altura, en el ser humano puede clasificarse de distintas maneras, pero principalmente se efectúa de acuerdo a la cantidad de tiempo que se mantenga en esta condición. Así se distinguen principalmente tres modalidades: **Exposición aguda:** condición en que el o los sujetos se exponen durante un periodo corto de tiempo (horas o días) a la altura geográfica, siendo esta situación, la mas frecuente en turistas y alpinistas; **Exposición crónica:** se refiere a periodos prolongados de tiempos, generalmente años y compromete principalmente a personas que han nacido en altura (nativos) o que viven permanentemente en altura, ya sea por razones de trabajo u otras (residentes habituales), y **Exposición crónica intermitente:** que se refiere a las personas que no viven permanentemente en la altura, sino

que se desplazan a ésta por periodos de tiempos para realizar su trabajo (horas o días) y luego descienden a nivel de mar para su descanso (horas o días) y se mantiene esta intermitencia, durante largos periodos de tiempo (Richalet et al., 2002).

1.3. Exposición a hipoxia hipobárica crónica intermitente

El desarrollo de la minería en Chile se ha sustentado en el último tiempo con la explotación de minerales que se extraen en faenas realizadas generalmente sobre los 4000 metros de altura. Para el desarrollo de este tipo de trabajo se ha optado por el reclutamiento de personal especializado que habita a nivel del mar y que debe trabajar por periodos cortos (días) a gran altura en regímenes de turnos, como modalidad de vida. Estas labores que comprometen a una elevada cantidad de trabajadores, generan un impacto económico y social importante.

Esta nueva situación laboral (exposición de seres humanos en forma intermitente a trabajo a gran altura durante largos periodos), ha sido denominada ***“Modelo Chileno de exposición intermitente crónica a la altura”*** (Richalet et al., 2002), representando un modelo de trabajo y una situación de salud relativamente nueva y no suficientemente explorada en el conocimiento científico, en comparación con la exposición crónica o con la aguda.

Esta condición laboral, implica un sistema de turnos con una cantidad fija de días de trabajo en altura seguido por un cierto número de días de descanso a nivel de mar. La frecuencia de estos turnos varía desde 4 hasta 40 días, y abarca un variado número de actividades, tales como minería, astronomía y trabajo de fronteras. En Chile, la mayoría de la población en esta modalidad, se encuentra vinculada al trabajo de minería, especialmente en la extracción del cobre, con un promedio de turnos de 7 días en altitud y 7 días a nivel de mar y todo ello durante periodos muy prolongados. Asimismo esta condición difiere de otras formas de exposición, tales como la exposición aguda (alpinistas) y crónica (habitantes de altura) y de otras exposiciones intermitentes a hipoxia tales como la apnea del sueño (Richalet et al., 2002).

Por ser una situación relativamente nueva, se encuentran pocos trabajos que nos señalen los efectos de este tipo de exposición, especialmente a largo plazo. Uno de los principales estudios en esta condición ha sido realizado en una cohorte de mineros, con un período de seguimiento de 2 años y medio, en intermitencia de 7 días en altura y 7 días a nivel de mar (Richalet et al., 2002), que demostró un aumento de la presión arterial inicial seguida de una posterior disminución, pero que se mantiene levemente mas elevada que la presión de nivel de mar, junto con una disminución de la frecuencia cardiaca comparada con la taquicardia de los periodos iniciales, una elevación del hematocrito, pero que no alcanza valores tan elevados como los descritos para residentes habituales, una persistencia de la EAM y una leve dilatación del ventrículo derecho. Otro estudio, en este tipo de exposición corresponde a uno de corte transversal, focalizado específicamente en el área hematológica y

cardiovascular, el cual también describe una elevación del hematocrito pero sin alcanzar niveles patológicos (Heinicke et al., 2003). Igualmente, recientemente se ha descrito un aumento de la presión pulmonar a valores patológicos en cada exposición y que esta, aunque reversible a nivel del mar, toma un cierto tiempo en recuperarse (Sarybaev et al., 2003). Se desconoce, si esto persiste en el tiempo o si se produce una hipertensión pulmonar con base orgánica estable.

1.4. Exposición a hipoxia hipobárica crónica

La exposición a la altura en forma crónica (hipoxia hipobárica crónica), es una situación que ha sido bastante estudiada en sus repercusiones fisiológicas y patológicas, fundamentalmente en nativos de altura o residentes habituales, pero muy poco descrita en cuanto a sus efectos en individuos nativos de nivel de mar, que se exponen a esta situación por primera vez. La relevancia epidemiológica de las poblaciones que viven en altura surge del hecho que solo en América del Sur, cerca de 35 millones de personas se encuentran viviendo en altura sobre 2500 m (León–Velarde et al., 2005) y últimamente debido al aumento en las actividades económicas y de fronteras instaladas en la región, ha aumentado el reclutamiento de sujetos jóvenes nacidos a nivel de mar que deben ir a vivir a la altura.

Se conoce que la exposición a la altura (hipoxia hipobárica) presenta diferentes respuestas cardiovasculares que varían, si se trata de una exposición aguda o crónica. Así en la exposición aguda, se señala un aumento

de la presión arterial y de la frecuencia cardiaca (Hackett, 2003) a diferencia de la exposición crónica, ya que se ha observado que la presión arterial en promedio no se presenta elevada y que los nativos de altura presentan una baja prevalencia de hipertensión (Woods et al., 2003; Monge y León-Velarde, 2003).

En cuanto a los cambios hematológicos, se conoce que tanto en humanos como animales, se produce un aumento del hematocrito y la hemoglobina en condición de cronicidad en altura (León Velarde et al., 2000; Monge y León-Velarde., 2003), lo que puede provocar condiciones patológicas por exceso de eritrocitos y por esto, las respuestas hematológicas en altura han sido establecidas como una de las líneas primarias en la investigación (Monge y León-Velarde, 2003), habiéndose producido mucha información acerca de los cambios en el hematocrito y hemoglobina y sus variaciones con la altura de residencia y la edad en nativos o residentes permanentes (Reeves y León-Velarde, 2004). La prevalencia de eritremias patológicas e hipertensión pulmonar de gran altura se ha publicado que varían entre el 5% y 10% en residentes permanentes (León-Velarde et al., 2005).

El perfil lipídico también ha sido investigado pero en menor cuantía, y desde un punto de vista epidemiológico, se ha planteando que la altura aumentaría el colesterol-HDL y disminuiría el colesterol-LDL (Sharma, 1990; Domínguez Coello et al, 2000, Cáceres et al., 2004; Cabrera de León et al., 2004). Sin embargo, en la literatura se observa una gran variabilidad de resultados que van desde, un aumento del colesterol total y sus fracciones (Jha

et al., 2002; Temte, 1996; Baibas et al., 2005) hasta valores similares que a nivel de mar (Rotta et al., 1965; Tin'kov y Aksenov, 2002; Cáceres et al., 2004), en una amplia diversidad de poblaciones, tipo de exposiciones y alturas.

También y aunque menos investigado, ha sido el recuento de leucocitos y su formula leucocitaria como una representación importante de la activación del sistema inmune (Thake et al, 2004). La información disponible, ha estado fundamentalmente centrada en las respuestas de expuestos agudos o crónicos que difícilmente pueden extrapolarse a una población emergente (sujetos jóvenes, nativos de nivel de mar y recién llegados a la altura). Acerca del posible compromiso de la función inmunológica, se ha descrito una mayor incidencia de enfermedades respiratorias, en sujetos expuestos en forma aguda (Murdoch, 1995) y en sujetos expuestos a intermitencia durante 2 años (Siqués y Brito, 2001). Las publicaciones respecto a leucocitos en exposición crónica, muestran una linfocitosis (Ramos et al, 1971), mientras que en la exposición aguda se señala una leucocitosis inicial que tiende a disminuir en el tiempo (Thake et al, 2004; Klokke et al, 1993).

Por todo lo expuesto anteriormente y partiendo de un problema de salud laboral en Chile (exposición a la altura en forma intermitente crónica), del cual se cuenta con poca información a medio y a largo plazo respecto a la evolución y comportamiento de la respuesta cardiovascular y hematológica y además, por la escasa información existente acerca de la respuesta inicial en sujetos jóvenes nativos de nivel de mar y recientemente llegados a vivir en altura, se realizan los siguientes planteamientos y objetivos de esta Tesis Doctoral.

2. Planteamiento y Objetivos

2. Planteamiento y Objetivos

2.1. Planteamiento

El planteamiento de la siguiente Tesis Doctoral se centra en una serie de hechos.

1. El desarrollo de la minería en Chile ha generado un nuevo modelo de ***exposición intermitente crónica a la altura***, que no ha sido suficientemente estudiado como productora de enfermedad, en comparación a la exposición crónica y aguda. Como obtener información humana es un proceso largo, ha parecido necesario contar con un modelo animal en los parámetros cardiovasculares y hematológicos, que pudiera proveer de la información necesaria.
2. No se cuenta con información a largo plazo, acerca de las variables hematológicas y cardiovasculares, en sujetos expuestos a hipoxia hipobárica intermitente crónica y dado que el seguimiento por periodos prolongados es difícil se hace necesario conocer estas variables, en sujetos que llevan expuestos a gran altura (3550 m) en este sistema, por 12 años o mas.
3. Las respuestas cardiovasculares, hematológicas y de perfil lipídico se encuentran descritas fundamentalmente en residentes habituales o nativos de altura, y se desconocen las respuestas iniciales de sujetos jóvenes nativos de nivel de mar que se desplazan a vivir por primera vez a gran altura, situación

que cada día por las actividades productivas en América del Sur es mas frecuente, por lo que parece necesario conocer como se comportan estas variables en este grupo en 8 meses de exposición.

Estos hechos llevan a establecer las siguientes consideraciones que justifican, el trabajo de investigación de la Tesis Doctoral y determinar sus objetivos

2.2. Objetivos

Esta tesis tiene los siguientes objetivos:

1. Evaluar y conocer los efectos cardiovasculares y hematológicos en ratas machos Wistar expuestos a dos turnos de hipoxia hipobárica intermitente crónica por 12 meses, a gran altura (428 torr; 4.600 m), comparados con hipoxia crónica y controles de nivel de mar.
2. Evaluar y determinar los parámetros cardiovasculares y hematológicos en sujetos del Ejército de Chile, que han estado expuestos por un periodo de 12 años o más, a hipoxia hipobárica intermitente crónica, en un sistema de turnos de 4 días en altura (3550 m) y 3 días a nivel de mar.
3. Evaluar y determinar los efectos en el hematocrito, en la representación inmune a través de los leucocitos y su formula leucocitaria y en el perfil

lipídico en sujetos jóvenes del Ejército de Chile, nativos de nivel de mar expuestos por primera vez a una relativa larga exposición a hipoxia hipobárica crónica durante 8 meses.

Cada uno de los objetivos se abordara en un apartado del siguiente modo:

- a)** El objetivo numero 1 se desarrollará en el apartado 3, titulado: “Historia Natural de la Respuesta Cardiovascular y Hematológica en Ratas Expuestas a Hipoxia Hipobárica Intermitente Crónica en Gran Altura”.
- b)** El objetivo numero 2 se desarrollará en el apartado 4, titulado: “Exposición a Hipoxia Intermitente Crónica en Gran Altura durante más de 12 años: Evaluación de los Efectos Hematológicos y Cardiovasculares”.
- c)** El objetivo numero 3 se desarrollará en el apartado 5, titulado: “Cambios Hematológicos y de Perfil Lipídico en Nativos de Nivel de Mar, Expuestos por Primera Vez a 3550 m de Altura por 8 meses”.

3. Historia Natural de la Respuesta Cardiovascular y Hematológica en Ratas
Expuestas a Hipoxia Hipobárica Intermitente Crónica a Gran Altura.

3. Historia Natural de la Respuesta Cardiovascular y Hematológica en Ratas Expuestas a Hipoxia Hipobárica Intermitente Crónica a Gran Altura.

3.1. Introducción

El desarrollo de la minería en Chile se ha sustentado en el último tiempo con la explotación de minerales que se extraen en labores realizadas generalmente sobre los 4.000 metros de altura. Para el desarrollo de este tipo de trabajos se ha optado por el reclutamiento de personal especializado que habita a nivel del mar y que debe trabajar por periodos cortos (días) a gran altura en regímenes de turnos, como modalidad de vida. Esta nueva situación laboral (exposición de seres humanos en forma intermitente a faenas de gran altura por largos periodos), representa un modelo de trabajo y una situación de salud relativamente nueva y no suficientemente explorada en el conocimiento científico, en comparación a la exposición crónica y aguda.

Se conoce que la exposición a la altura (hipoxia hipobárica) presenta diferentes respuestas cardiovasculares que varían, si se trata de una exposición aguda o crónica. Así en la exposición aguda, se señala un aumento de la presión arterial y la frecuencia cardiaca (Hackett, 2003) a diferencia de la exposición crónica en la que se ha observado que la presión arterial no se presenta elevada en promedio y por otra parte los nativos de altura presentarían una baja prevalencia de hipertensión (Woods et al., 2003; Monge y León-Velarde, 2003). Los estudios sobre intermitencia en humanos a los dos

años de exposición (Richalet et al, 2002) han demostrado que las cifras de presión arterial no se modifican significativamente, pero son mas elevadas que en grupos de nivel de mar y la frecuencia cardiaca tiende a disminuir.

En cuanto a los cambios hematológicos, es bien conocido tanto en humanos como animales, que se produce un aumento del hematocrito y la hemoglobina en la situación de exposición crónica (León Velarde et al., 2000; Monge y León-Velarde., 2003), lo que puede provocar condiciones patológicas por exceso de eritrocitos.

Partiendo de un problema de salud laboral prioritario nacional, del cual se cuenta con poca información a medio y a largo plazo y del cual se desconoce su historia natural, el Centro de Estudios de Altura de la Universidad Arturo Prat, inició un programa con el objetivo de diseñar un modelo animal que pudiera simular el patrón de exposición a gran altura del trabajador minero y así poder efectuar estudios que en humanos seria imposible.

Con este propósito se estudiaron los parámetros cardiovasculares y hematológicos en un grupo de ratas en un sistema de turnos por un largo periodo vital (1 año), comparados con un grupo expuesto en forma crónica y un grupo control a nivel de mar. Dicho periodo equivale a más de un tercio de la vida de esta rata Wistar (vida promedio: 30 meses) (Baker et al., 1979).

3.2. Materiales y Métodos

3.2.1. Grupos de estudio y diseño:

Para evitar cambios relativos a influencias hormonales y para mantener una similitud con el modelo chileno, donde la población minera es predominantemente masculina, solo se estudiaron ratas machos.

Se estudiaron 158 ratas Wistar machos de 3 meses de edad asignados al azar a 4 grupos:

GRUPO ICH4X4: Hipoxia intermitente crónica, 4 días en hipoxia hipobárica y 4 días en normoxia normobárica, n= 50.

GRUPO ICH2X2: Hipoxia intermitente crónica, 2 días en hipoxia hipobárica y 2 días en normoxia normobárica, n= 50.

GRUPO NX: Normoxico, grupo control nivel de mar, n= 30.

GRUPO CH: Hipoxia crónica permanente, n= 28.

La disminución de la presión atmosférica, se simuló con una cámara hipobárica, a 428 torr, equivalente a 4600 m sobre el nivel de mar, manteniendo un flujo interno de 3.14 l/min. de aire en la cámara (0.09 lts de aire minuto por rata). El grupo control fue colocado en la misma habitación de la cámara hipobárica ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$; 12 hrs., ciclos de noche-día). En cada jaula se mantuvieron 4 ratas, con comida disponible de (10 g/día de pellet por rata).

3.2.2. Variables

Los respectivos grupos fueron expuestos a las condiciones señaladas por un periodo de 12 meses; las variables medidas fueron: Peso (W), Presión Arterial Sistólica (BP, mmHg.) y Pulso (HR, b/min.), en forma mensual, después de la exposición. El Hematocrito (Hct, %), Hemoglobina (Hb, grs./dl) y Recuento Total de Leucocitos se midió en forma bimensual.

El peso fue medido en una balanza granitaria Acculab V- 1200, a las tres horas después de la exposición. Para la medición de la presión arterial y el pulso se utilizó un mango de cola inflable y un sensor de presión (RTBP1003-220, Kent Scientific, Torrington, CT, U.S.A.); método validado para esta medición (Jhons et al., 1996). La señal fue enviada a través de un pre-amplificador al sistema de adquisición de datos Workbench, registrando el promedio después de 6 mediciones consecutivas. El día de las mediciones, los animales fueron aclimatados a una limitación de movimientos en una cámara de Plexiglas por 10-20 min. Las lecturas fueron recogidas utilizando el RTBP-001-DS worksheet (Kent Scientific, U.S.A.).

Para los exámenes hematológicos, se utilizó una muestra sanguínea extraída de la cola. Para el hematocrito se utilizó una microcentrifuga y la hemoglobina fue medida mediante un contador electrónico Coulter y los leucocitos leídos en una cámara de Bauer.

El diseño de este protocolo y modelo de experimentación contó con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad Arturo Prat; Iquique, Chile, para el estudio en animales

3.2.3. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 12.0. (SPSS, Inc., Chicago, Ill). En el análisis descriptivo se calculó para cada variable: Media, desviación estándar e intervalos de confianza de la media. Para determinar la normalidad de las variables se realizó la prueba de Kolmogorov- Smirnov.

El estudio de las posibles diferencias de promedios entre los diferentes grupos se estableció, utilizando análisis de varianza mediante ANOVA de un factor y pruebas post hoc, en forma transversal, para los diferentes grupos 2 a 2. También, para estudiar las diferencias de las mediciones en el tiempo, se utilizó ANOVA de medidas repetidas.

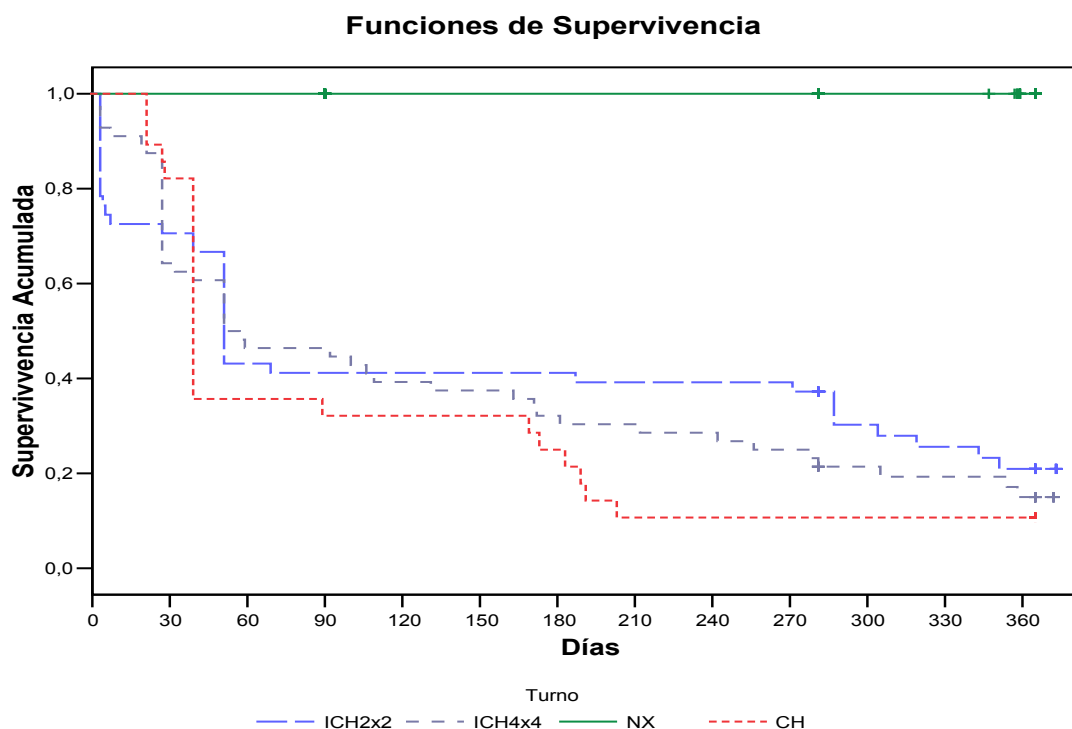
Para estudiar las diferencias en el tiempo de la ocurrencia del evento de mortalidad se realizó un análisis de supervivencia, utilizando la prueba de Kaplan- Meier y su significación estadística a través del Log-Rank. También se realizó un análisis bi y multivariable, con las variables independientes para observar asociaciones y posibles factores de confusión, utilizando regresión de Cox, estableciéndose los Hazard Rate resultantes de este análisis. Todos los

parámetros fueron analizados con un nivel de confianza de un 95%, p valor <0.05 .

3.3. Resultados

La supervivencia observada, muestra una disminución inicial durante el primer mes, en todos los grupos expuestos en relación al grupo control a nivel de mar ($p < 0.001$), seguida por una estabilización en el tiempo. Aunque se aprecia que los grupos en exposición intermitente, presentan una leve mejor supervivencia y un distinto tiempo en la ocurrencia de la mitad de los eventos, frente a los expuestos crónicamente, aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas (p NS) (Fig. 1).

Fig. 1.- Curva de Supervivencia de Kaplan-Meier del total del protocolo.



A pesar de tener todos los grupos igual oferta de alimentos, no se observa ganancia de peso en todos los grupos expuestos sin diferencias significativas entre si, pero todos tienen diferencias significativas con el grupo control (NX) ($p < 0.001$), aún frente a igual oferta de alimento, tampoco se observan diferencias entre si al comparar los grupos expuestos (p NS) (Fig. 2). Además, se observó que los grupos expuestos a hipoxia ingerían una menor cantidad de alimento (60% menos).

Al asociar la variable peso con la mortalidad, se demostró una dependencia entre estas variables ($p < 0.001$), las ratas que murieron presentaban 50 grs. de peso menos en promedio que aquellas que no murieron.

Fig. 2.- Promedio mensual de peso, total del protocolo. Promedios \pm Intervalos de Confianza.

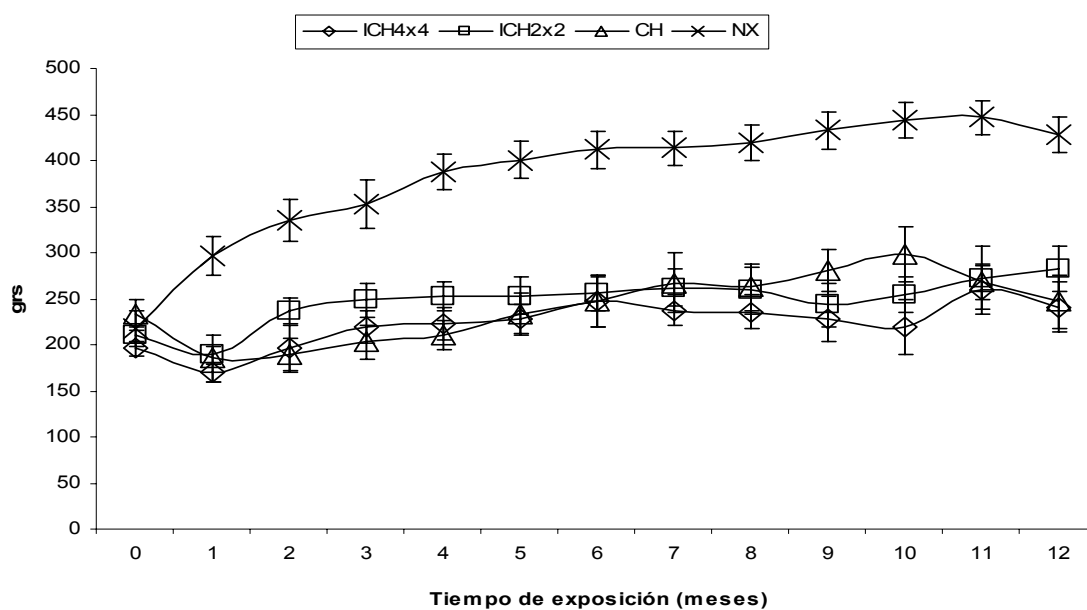
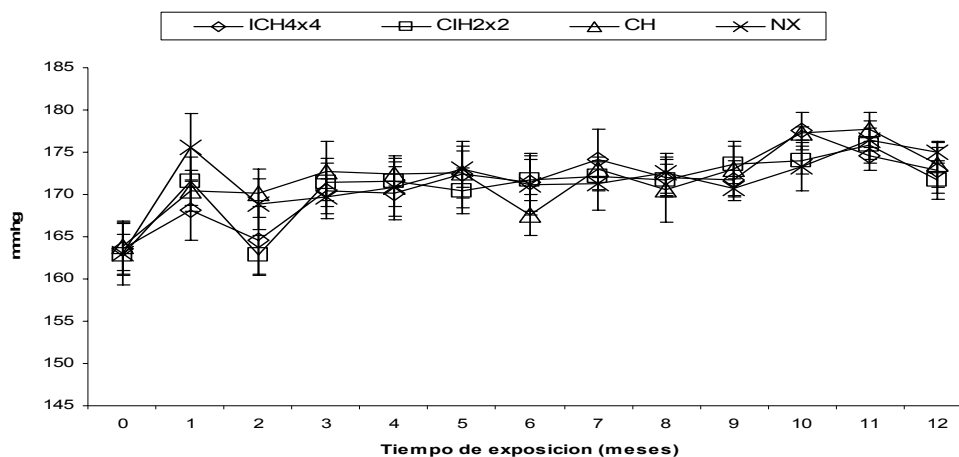
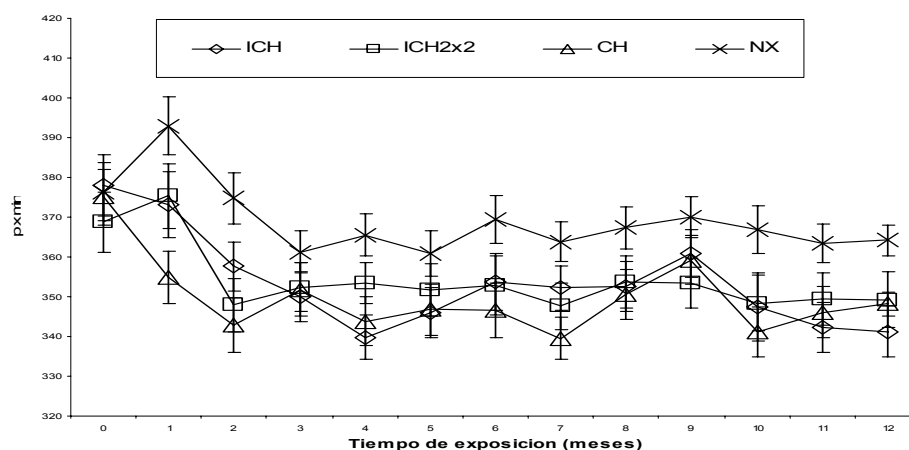


Fig. 3.- Promedio mensual de: **a)** Presión Sistólica (mm/Hg.) **b)** Pulso por minuto (lat/min.), total del protocolo; Promedios \pm Intervalos de Confianza.

a)



b)



En relación al promedio de la presión arterial sistólica, existe una tendencia a aumentar respecto al valor basal en los últimos periodos del estudio ($p < 0.05$) incluyendo el grupo control, con excepción del grupo crónico que se mantiene constante (p NS). Estos cambios no son diferentes entre los turnos (p NS) (Fig. 3a). No se encontró una asociación entre las variables mortalidad y presión arterial.

El pulso presenta un comportamiento distinto dependiendo del tipo de exposición y del periodo expuesto, aunque se observa una disminución de la frecuencia cardiaca en todos los grupos expuestos respecto al control. Esta respuesta se inicia con mayor intensidad, durante el primer mes, en el turno crónico ($p<0.001$), igualándose en los grupos intermitentes y estabilizándose en valores inferiores al basal, pero sin diferencias entre los turnos; a partir del segundo mes y se mantiene así hasta el final del estudio ($p<0.001$) (Fig. 3b). No se obtuvo una asociación entre esta variable, presión arterial, peso y mortalidad.

El hematocrito al igual que la hemoglobina, en todos los grupos expuestos, muestra una tendencia al incremento desde el mes 1°, logrando su máxima expresión en el mes 3°, manteniéndose después durante todo el periodo en niveles elevados respecto al grupo control ($p<0.001$).

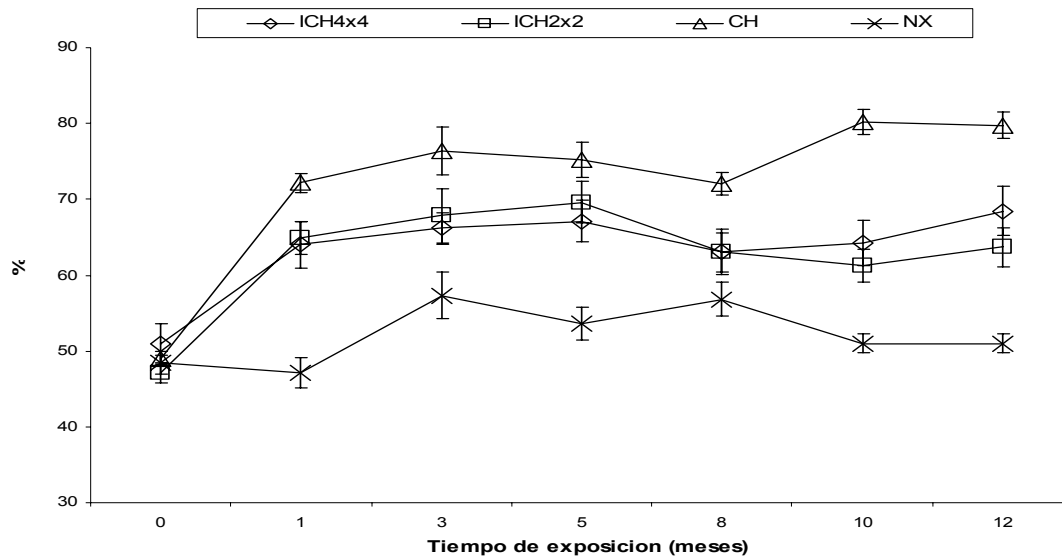
Los grupos intermitentes muestran valores de hematocrito y hemoglobina similares entre si y se presentan en una posición intermedia entre el grupo crónico y el grupo control a nivel del mar ($p<0.001$) (Fig. 4a y 4b). Se encontró una asociación entre la variable hematocrito y mortalidad ($p<0.001$), ya que las ratas que mueren tienen en promedio 7.1 unidades de hematocrito más que las que no mueren.

Para corroborar la hipótesis y descartar el efecto de la hidratación, se analizó la existencia de una asociación entre las variables hematocrito y hemoglobina. Esta fue significativa ($p<0.001$) y además, por cada unidad de

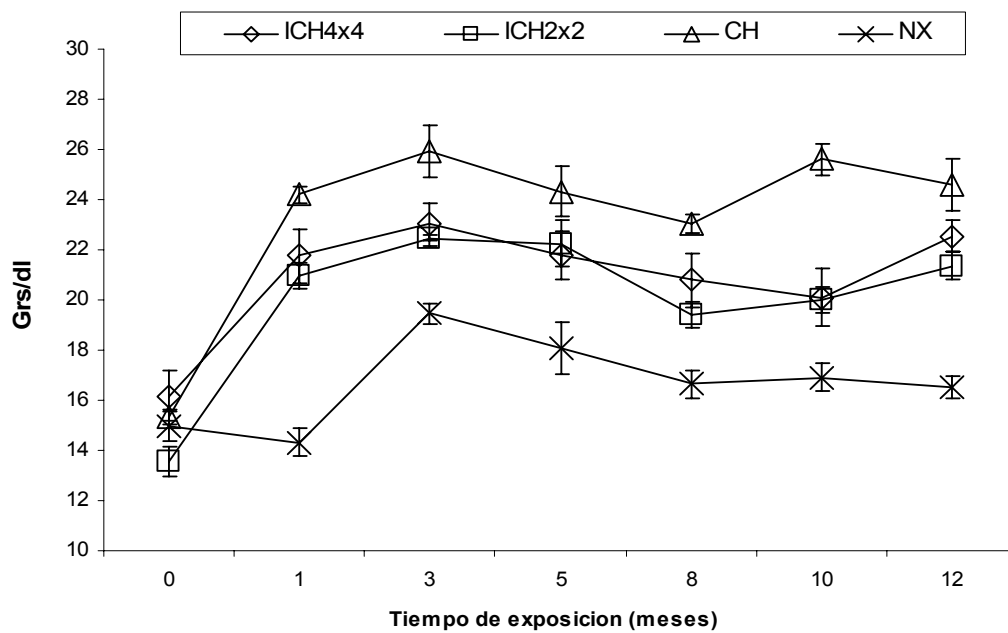
aumento del hematocrito la hemoglobina se incremento un promedio de 0.32 gr./dl (r: 0.996).

Fig. 4.- Promedio mensual de: **a)** Hematocrito (%) **b)** Hemoglobina (grs. /dl.), total del protocolo; Promedios \pm Intervalos de Confianza

a)

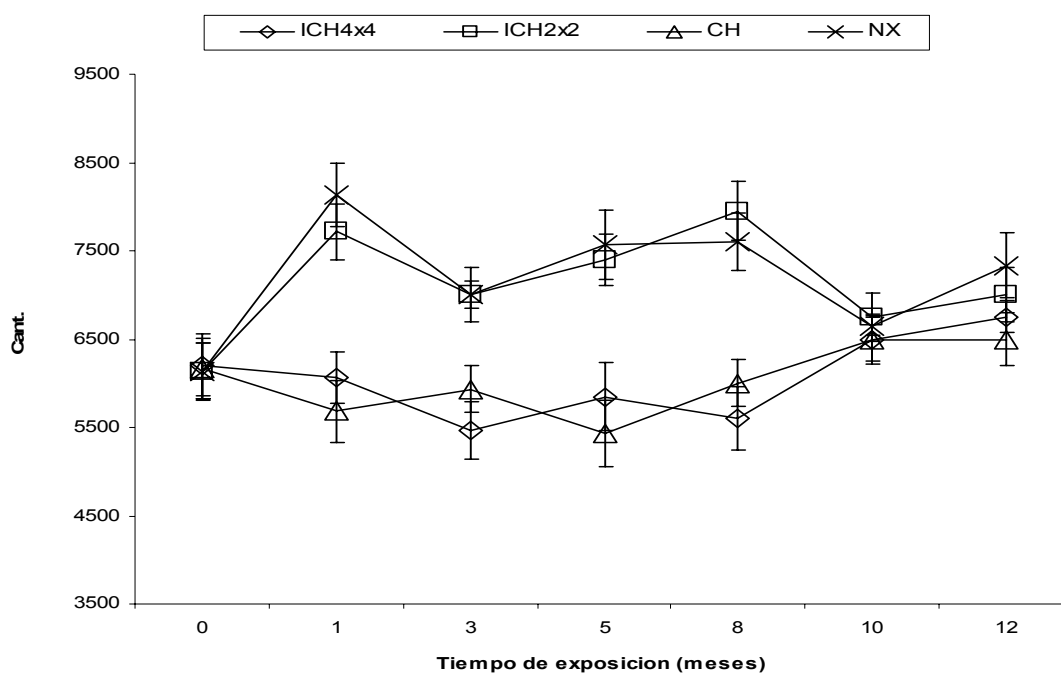


b)



También, se estudió el comportamiento de los leucocitos totales, encontrándose que los valores muestran una tendencia estable en los 4 grupos estudiados a partir del 1° mes. Aquí, se separan las curvas de los gráficos del turno control y del ICH2x2 hacia un rango superior y los turnos ICH4x4 y CH hacia un valor inferior, nivelándose todos los grupos en el mes 10° y no encontrándose diferencias entre los grupos al final del periodo (p NS) (Fig. 5).

Fig. 5.- Promedio mensual de leucocitos, total del protocolo; Promedios \pm Intervalos de Confianza



3.4. Discusión

Esta investigación a exposición de largo plazo (12 meses), aporta al conocimiento de la evolución o de la Historia Natural de las dolencias relacionadas con la altura en exposición intermitente, el hecho que algunas

variables fisiológicas se presentan como determinantes de patrones de comportamiento y pronóstico de daño al comparar dos diferentes regímenes de exposición intermitente a la altura (uno corto y uno largo), comparados con la exposición crónica y nivel de mar. Este estudio se realizó con el propósito de obtener un modelo de investigación animal que pueda ser útil en obtener un mejor conocimiento de la hipoxia intermitente en forma crónica en humanos.

Los resultados muestran que la exposición a altura tiene respuestas comunes y específicas de acuerdo al tiempo y al turno, algunas ya conocidas, y otras que señalan el hecho que la exposición en forma intermitente crónica a altura es ciertamente una condición específica. La mortalidad aumenta en forma significativa con la altura y existe un efecto marcado de impacto en la ingesta de alimento y en el peso. Inesperadamente, no existen cambios significativos en la presión sistólica respecto al grupo control, pero el pulso muestra una disminución con el tiempo de exposición. Además el hematocrito y la hemoglobina aumentan, alcanzando niveles intermedios en cuanto a los valores respecto a los encontrados en el grupo control y crónico, apreciándose su aumento asociado a una mayor mortalidad.

El estudio de la mortalidad y supervivencia ha sido poco abordado en la literatura y en este experimento se puede apreciar claramente una elevada mortalidad en todos los tipos de exposición. En este sentido la mortalidad o mejor la supervivencia, que representaría una medida de la tolerancia presenta dos fases: la primera, que probablemente corresponde a los “intolerantes naturales” y una segunda fase que representaría a los sujetos que tienen una

mejor tolerancia o adaptabilidad a la altura, corroborado esto último por la supervivencia al término del experimento. Destaca además, que la supervivencia en los grupos de exposición intermitente, pasada la fase aguda, siempre fue mayor al grupo en exposición crónica, pero no alcanzo significación.

Otra medida indirecta de la adaptación o de efectos de la exposición a la altura, es el bajo promedio de ganancia de peso encontrada y la disminución en la ingesta de alimento, las cuales se vieron notoriamente alteradas en forma similar en todos los grupos expuestos, por lo que la anorexia y otros mecanismos no definidos, como el efecto de la hipoxia en la leptina, podrían estar jugando un rol importante. Es conocido, que la exposición a gran altura tiende a reducir las preferencias por las proteínas, lo que disminuye la masa de grasa libre (Germark et al., 2002; Morel et al., 2005) describiéndose también, una disminución de ganancia de peso en estos trabajos, sin embargo difiere de lo encontrado por McGuire y Bradford, 1999, que no encuentran estas diferencias de peso en ratas sometidas a exposición intermitente respecto al control, pero con un régimen de hipoxia obtenido por hipocapnia y un menor tiempo de exposición que en este modelo.

Nuestros resultados muestran un importante efecto, que no logra una compensación o adaptación y no se observan diferencias entre exposición intermitente y crónica, y en el cual el peso debe ser considerado como un factor pronostico de supervivencia.

La presión arterial se considera un parámetro importante de medir en condiciones de hipoxia, ya que se han descrito diferentes respuestas de acuerdo al tipo de exposición. Por los resultados obtenidos, no se puede establecer a la presión sistólica como un indicador de cambio en la exposición a la altura intermitente en ratas.

En exposición intermitente, especialmente en humanos, la presión arterial aumenta levemente al inicio y luego disminuye a valores basales si se prolonga el periodo de exposición (Richalet et al., 2002 y Antezana et al., 2003) y en ratas se mantiene elevada (Geermak et al., 2002). En el caso de exposición aguda, se observa incremento de la presión sistólica que tiende a disminuir, manteniéndose elevada la presión diastólica (Heistad et al., 1980; Basu et al., 1996) y en los nativos o los que viven por largo tiempo en altura, ha sido descrita una menor presión sistémica (Calbet et al., 2003; Monge y León Velarde, 2003).

Los resultados de este estudio, demuestran que la presión sistólica se ve afectada igualmente en el largo plazo independiente de la exposición, con una tendencia a un mayor valor al final del periodo, presumiblemente por el envejecimiento de los animales. El valor de la presión arterial en los expuestos crónicos refleja lo publicado en la literatura. Existe en general un consenso que la norepinefrina plasmática o urinaria está elevada en sujetos que permanecen por más de una semana en altura (Rostrup, 1998) y que ese hallazgo es compatible con un aumento de la actividad simpática y el consiguiente aumento de la presión arterial sistémica. En ratas, la excreción de norepinefrina durante

una exposición a 380 torr por 5 semanas, aumenta durante el periodo inicial en gran altura, pero luego disminuye a medida que la exposición continúa (Myles y Ducker, 1971), siendo independiente de la concentración de norepinefrina plasmática. Por lo anteriormente descrito, el hecho que el promedio de presión arterial sea idéntica que en normoxia (110 a 125 mm Hg) no aparece como sorprendente.

La disminución del pulso o frecuencia cardiaca, ha sido descrita como un fenómeno de adaptación en humanos por un mecanismo de auto regulación negativa (Richalet et al., 1990; Richalet et al., 1992; León Velarde et al., 1999; Richalet et al., 2002; Antezana et al., 2003, Monge y León-Velarde, 2003), que en nuestro estudio, se manifiesta por una disminución de la frecuencia cardiaca siendo mas tardía en los expuestos intermitente y se comporta a largo plazo en forma similar a la exposición crónica. Resulta interesante señalar que el inicio de esta respuesta en intermitencia, aunque lenta, permitiría anular una taquicardia esperada en comparación con el grupo control, durante el primer mes. En este sentido, podría ser que la respuesta adaptativa de disminución de la frecuencia cardiaca en intermitencia toma un mayor tiempo, pero la respuesta a la altura final es similar en todos los grupos expuestos. Por otra parte, no existe relación entre pulso, presión sistólica y mortalidad.

El comportamiento del hematocrito y hemoglobina no presenta diferencias con lo comunicado en sujetos expuestos a hipoxia crónica (León Velarde et al., 2000; Monge y León-Velarde, 2003; Reeves y León-Velarde, 2004); que muestran un aumento progresivo con la edad y la exposición.

Además, la correlación encontrada entre hematocrito y hemoglobina, refleja un aumento real y no una diferencia explicada por volumen plasmático o tamaño celular.

Los resultados encontrados nos permiten establecer que la respuesta hematológica en exposición intermitente es menos intensa que la encontrada en exposiciones crónicas, sin diferencias entre turnos cortos o largos y ubicándose en una posición intermedia respecto al control y a la exposición crónica. Esta respuesta se inicia al primer mes y logra su máxima expresión al tercer mes. Esta menor intensidad de respuesta debe ser tomada en cuenta para establecer duración de las exposiciones o turnos, por el conocido rol que juegan los niveles de hematocrito en el desarrollo de cambios patológicos en la altura.

Por otra parte, el haber encontrado una fuerte asociación del hematocrito con la mortalidad, sostiene a este como un indicador de pronóstico de los efectos patológicos de la altura. Las publicaciones de la literatura en humanos (Richalet et al., 2002) y en ratas (Germark et al., 2002) no solo concuerdan con nuestros resultados, sino que refuerzan la idea del uso de los niveles de hematocrito como un marcador de cambios adaptativos y a su vez de pronóstico, (Ruiz-Arguelles et al, 1980.; Rivera et al., 1997; León Velarde et al., 2000; Vásquez et al., 2001; Calbet et al., 2002; Germack et al., 2002; Monge y León-Velarde, 2003).

El comportamiento del recuento de leucocitos, variable poco investigada en la literatura, demuestra una respuesta similar en los turnos, intermitentes largos de 4 días y los expuestos crónicos a diferencia del turno mas corto de 2 días que se asemeja al control y se desconoce una explicación para ello. Sin embargo, podría tratarse de otro efecto secundario de la hipoxia a nivel medular ósea.

En conclusión, este estudio contribuye al conocimiento de la historia natural de algunos parámetros en la hipoxia hipobárica intermitente crónica, en ratas, que permitiría establecer una base o modelo de experimentación de esta condición, para su posterior aplicación, de lo encontrado, en humanos.

Esta historia natural, nos muestra que en este modelo, la gran altura afecta fuertemente a la supervivencia y ganancia de peso, dándose lo anterior, junto a fenómenos adaptativos parecidos a los crónicamente expuestos en pulso, hematocrito y hemoglobina. Sin embargo, se logró apreciar que la exposición intermitente crónica, en términos de las respuestas hematológicas, ocupa una posición intermedia más benigna que la exposición crónica, pero que tienen una fuerte influencia como predictores de respuestas patológicas. Aunque estos resultados no son fácilmente extrapolables a la clínica, indican las áreas potenciales de interés.

Asimismo, se demuestra que la mayoría de los cambios o respuestas biológicas de adaptación se inician a partir del primer mes de exposición,

logrando su mayor expresión y posterior estabilización al tercer mes, haciendo innecesarios periodos mas prolongados de observación.

4. Exposición a Hipoxia Intermitente Crónica en Gran Altura durante más de 12 años: Evaluación de los Efectos Hematológicos y Cardiovasculares.

4. Exposición a Hipoxia Intermitente Crónica en Gran Altura durante más de 12 años: Evaluación de los Efectos Hematológicos y Cardiovasculares.

4.1. Introducción

Relativamente pocas investigaciones han evaluado los efectos de la hipoxia crónica intermitente, sin encontrarse publicaciones como situación de trabajo en una forma integral (Neubauer, 2001). El único estudio que reúne varios aspectos corresponde a una cohorte de mineros seguidos por dos años y medio en turnos de 7x7 días en altura y a nivel de mar (Richalet et al., 2002), que evalúa aspectos: hematológicos, hormonales, cardiovasculares, sintomatología de altura y calidad de sueño. Además, algunos aspectos específicos han sido evaluados por otros autores, en las áreas hematológica y cardiovascular (Smichtd, 2002; Heinicke et al., 2003), en el área de la morbilidad general (Siqués y Brito, 2001) en diferentes sistemas de turnos y los efectos ecocardiográficos en circulación pulmonar, con ecocardiografía dopler, en una cohorte de 26 trabajadores mineros seguida por 3 años en un sistema de turno de 4 semanas en altura de 3700 m a 4200 m y 4 semanas a nivel de mar (Sarybaev et al., 2003).

Los estudios transversales muestran que el hematocrito se encuentra elevado en 3550 m (Heinicke et al., 2003), con valores similares a residentes Chilenos a esa misma altura (Schmidt, 2002). Los estudios de cohorte en mineros Chilenos revelan un hematocrito moderadamente elevado, leve

hipertensión arterial sistémica, aumento leve del grosor del ventrículo derecho, enfermedad aguda de montaña (EAM) y alteraciones del sueño que permanecen sin modificación (Richalet et al., 2002). En el otro estudio de cohorte de mineros, se señala una hipertensión pulmonar hipóxica leve, reversible a nivel de mar (Saryaeu et al., 2003). Se desconoce si esta condición representa cambios o adaptaciones biológicas en el ser humano a largo plazo, sean estas reversibles o definitivas (West, 2002).

No se encuentran publicaciones o estudios integrales de sujetos que lleven largos periodos de exposición a la altura, en forma intermitente crónica y dada la dificultad de monitorizar o seguir una cohorte durante más de 12 años, es por lo que se planteó el presente estudio transversal con el objetivo de evaluar, el estado biológico y de salud de sujetos del Ejército de Chile que llevan trabajando mas de 12 años (promedio 25 años) en un sistema de turnos de 4 días en altura y 3 días de reposo a nivel del mar, a 3550 m, a través de las variables cardiovasculares, hematológicas y bioquímicas, como una manera de ir construyendo una historia natural de este sistema de exposición y tipo de turno.

4.2. Materiales y Métodos

4.2.1. Grupo de estudio y diseño

El diseño del estudio ha sido transversal y la población estudiada corresponde a 50 sujetos que trabajan en el Ejército de Chile, sanos al ingreso

a la institución, sometidos a examen preventivo anual de salud, y que han permanecido expuestos a hipoxia hipobárica en forma intermitente por un periodo igual o superior a 12 años, en un sistema de turno de 4 días en altura en la localidad de Putre (3.550 m) y 3 días de descanso a nivel de mar en la ciudad de Arica, Chile.

4.2.2. Variables

Por cada sujeto se registraron diferentes variables que podemos clasificar en variables generales y específicas (cardiovasculares, hematológicas, bioquímicas, así como sintomatología de enfermedad aguda de montaña):

4.2.2.1. Variables Generales

Edad (años), peso (Kg.), talla (m), años de exposición a la altura (años) y condición de fumador; el índice de masa corporal fue calculado en Kg/m^2 .

4.2.2.2. Variables Cardiovasculares

La presión arterial sistólica (PAS) y la presión arterial diastólica (PAD) fueron medidas en el brazo derecho en los sujetos sentados después de 5 minutos de reposo, utilizando un esfigmomanómetro de mercurio con un mango adecuado. La frecuencia cardiaca (FR) y la saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO_2) fue medida con un oxímetro (POX050, Medaid ®). Tres

medidas de cada variable fueron tomadas con un intervalo de dos minutos. Para el análisis se utilizó el promedio de las 3 medidas, ya que las diferencias entre las 3 presentaban poca variabilidad. Las mediciones se realizaron en altura, el día 1° y día 4° y a nivel del mar, el día 1°. Los sujetos a nivel de mar fueron sus propios controles.

4.2.2.3. Variables Hematológicas y Bioquímicas

Una muestra venosa sanguínea fue tomada a nivel de mar el 1° día. Se utilizó un contador hematológico automático (Cell-dyn 3700, Technigen®, USA) para el recuento de la serie roja y blanca y para la determinación de lípidos, se utilizó un kit (Chemelex®, Barcelona) con un multi-analizador (Selectron XL, Technigen®, USA).

4.2.2.4. Estudio de Sintomatología de altura

Se aplicó la prueba de autopercepción de “Lake louise AMS score” (Anonymous, 1992), el 1° día en altura después de haber dormido una noche en esta condición (18 hrs.), el 2° día y el 4° día (ultimo día). Este fue repetido a nivel de mar el día 1°, 2° y 3° (último día). Se consideró Enfermedad Aguda de Montaña (EAM), la presencia de cefalea más otro síntoma (Hackett, 2003). Se utilizó, el cuestionario de Spiegel modificado (Richalet et al., 2002) para evaluar el estado de sueño, en los mismos periodos que la anterior prueba.

4.2.2.5. Estudio de Historia Médica

Se revisó el registro del historial médico de las consultas y enfermedades por año de aparición, como una manera de obtener antecedentes para la discusión de los resultados.

Todos los participantes fueron voluntarios, los sujetos fueron informados acerca del estudio y firmaron un documento de consentimiento. El diseño de este protocolo contó con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile.

4.2.3. Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico, se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 12.0. (SPSS, Inc., Chicago, Ill). Los promedios, desviación estándar, error típico de la muestra e intervalos de confianza de la media, fueron calculados para cada parámetro. Se estableció, la normalidad de las variables utilizando la prueba de Kolmogorov–Smirnov. Para estudiar las diferencias de FC, PAS, PAD y SaO₂, entre los distintos periodos se utilizó el análisis de la varianza mediante ANOVA de medidas repetidas y para las diferencias en las proporciones, la prueba de Chi cuadrado de McNemar.

También, se establecieron correlaciones entre diferentes variables utilizando la prueba de Pearson's. Con el objetivo de analizar la asociación entre algunas variables dependientes (dicotomizadas según puntos de corte de

los valores patológicos) y otras variables significativas después de un análisis bi variado, se realizó un análisis multivariante mediante regresión logística. Los resultados se presentan como crudos (ajustados entre si), Odds ratio (OR) y sus intervalos de confianza del 95% (IC). El nivel de significación fue establecido a un 95% de confianza, p-valor <0.05.

4.3. Resultados

El grupo presenta un promedio de edad de 48.7 ± 06 y muestra sobrepeso en el 66%. El promedio de años exposición a la altura ha sido de 22 ± 5.8 años (más del 50% llevaba 25 años o más en altura) Tabla 1.

Tabla 1.- Características generales del grupo estudiado: Edad (años). Índice de masa corporal (IMC, Kg./m²), años de altura y condición de fumador (Si/No). Los valores son promedios \pm DE; proporciones (%).

	$\bar{X} \pm DE$	Rango	(%)
Edad	48.7 ± 2.0		
		<45	2
		45-50	78
		>50	20
IMC	26.3 ± 2.3		
		20-24	34
		25-29	58
		30-34	8
Años de Altura	22.1 ± 5.8		
Fumador		Si	52
		No	48

4.3.1. Variables cardiovasculares

Los promedios de la PAS a nivel del mar y en altura se encuentran dentro de los rangos normales esperados para esa edad y son similares a los encontrados en la misma edad en poblaciones de nivel de mar. Sin embargo, es evidente, un aumento de la PAS el 1° día de exposición en altura ($p < 0.001$), recuperando el valor de nivel del mar el 4° día ($p < 0.01$). La distribución intra sujetos por categorías, muestra un elevado porcentaje (42%) con PAS por sobre 130 mm Hg. ($p < 0.001$). La PAD presenta similar comportamiento con elevación el 1° día en altura ($p < 0.001$), recuperando el valor de nivel de mar el 4° día ($p < 0.001$). La distribución intrasujetos por categoría de hipertensión, muestra un menor porcentaje (20%) con PAD sobre 90 mm Hg. ($p < 0.05$). Tabla 2.

La frecuencia cardiaca, aunque en rangos normales, también se eleva el 1° día en altura ($p < 0.001$) descendiendo al 4° día, sin recuperar el valor de nivel de mar ($p < 0.001$) y la SaO_2 muestra un descenso significativo el 1° día ($p < 0.001$) elevándose el 4° día ($p < 0.001$) sin alcanzar los niveles previos de nivel de mar. Destaca, un 16% con saturaciones inferiores al 89% el 1° día en altura.

Tabla 2.- Presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD), frecuencia cardiaca (FC) y saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO₂), en nivel de mar (nm) y al día (d) 1° y 4° en altura. Los valores son promedios \pm error estándar (ES) y p-valor (*p*).

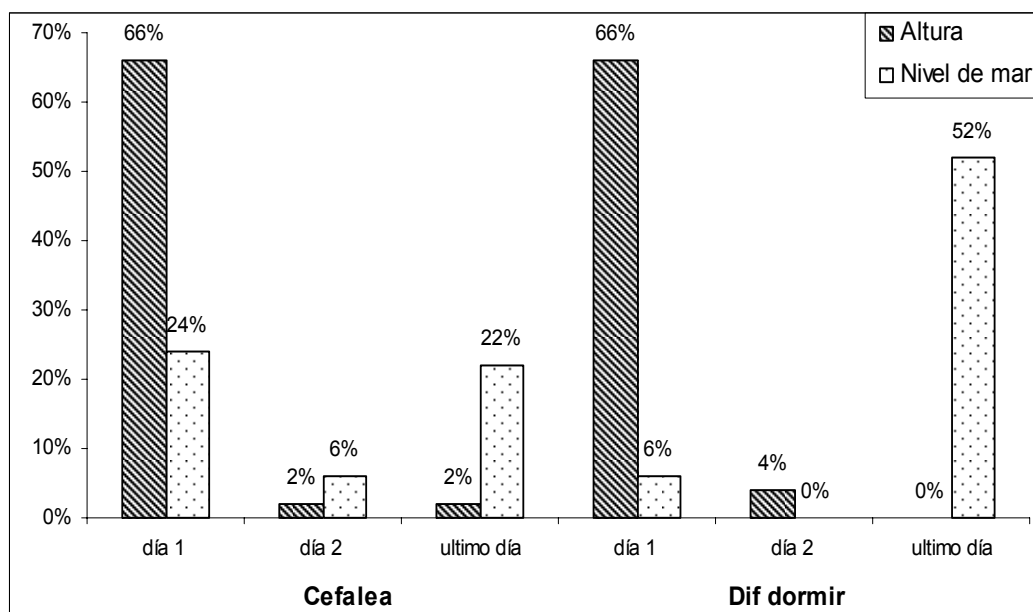
	nm ($\bar{X} \pm ES$)	Altura d 1 ($\bar{X} \pm ES$)	Altura d 4 ($\bar{X} \pm ES$)
	(1)	(2)	(3)
PAS (mm Hg).	122.1 \pm 1.2	127.1 \pm 1.8	122.9 \pm 1.3
	<i>p</i> (1-3) NS	<i>p</i> (1-2) <0.001	<i>p</i> (2-3) <0.001
PAD (mm Hg.).	79.0 \pm 0.9	83.8 \pm 1.3	78.1 \pm 0.9
	<i>p</i> (1-3) NS	<i>p</i> (1-2) <0.001	<i>p</i> (2-3) <0.001
FC (latidos/min)	79.8 \pm 0.3	82.6 \pm 0.4	81.2 \pm 0.3
	<i>p</i> (1-3) <0.001	<i>p</i> (1-2) <0.001	<i>p</i> (2-3) <0.001
SaO ₂ (%)	99.8 \pm 0.08	92.8 \pm 0.6	96.6 \pm 0.5
	<i>p</i> (1-3) <0.001	<i>p</i> (1-2) <0.001	<i>p</i> (2-3) <0.001

4.3.2. Enfermedad aguda de montaña (EAM) y Sueño

Se encuentra una alta puntuación del cuestionario de auto percepción de EAM el 1° día $p < 0.001$, en comparación con los otros períodos, apreciando una incidencia de un 60% de EAM en altura, fundamentalmente del tipo moderada (40%) que desaparece en forma importante el 2° día. Aquellos que tenían EAM eran 30 sujetos con una puntuación media de Lake Louise de 5.4 ± 0.42 puntos (rango 2-10). Notoriamente la cefalea representa un síntoma muy importante (66%) junto a la alteración de la calidad de sueño (66%; $p < 0.001$), aunque estas ultimas variables incluían a 3 sujetos sin EAM, Fig. 6. Además se ha encontrado el 1° día una débil correlación entre SaO₂ y la puntuación de EAM

(r^2 0.096, $p < 0.05$) y la puntuación del cuestionario para desordenes del sueño (r^2 0.114, $p < 0.05$).

Fig. 6.- Comparación de proporciones (%) de cefalea y dificultad para dormir en altura y a nivel de mar (nm) en día 1°, 2° y último día (día 4° en altura y día 3° a Nivel de mar).



4.3.3. Hematología y bioquímica

Se observa, un hematocrito (Hct) mayor a 45% y una hemoglobina (Hb) mayor a 14 Mg/dl, en el 60% de los sujetos y solo un 6% presenta valores de Hct mayores de 50%. El estudio del perfil lipídico revela un valor promedio elevado (238.0 mg/dl) en los triglicéridos y una elevada proporción (60%) con valores superiores a 150 mg/dl (límite superior normal), Tabla 3.

El análisis multivariado realizado mediante una regresión logística con los triglicéridos como variable dependiente (punto de corte 150 mg/dl), con todas las variables significativas y ajustada por hábito tabáquico, muestra una asociación inversa (B -0.265) con la SaO_2 el 1° día en altura, OR 0.767 (0.596-0.967), ($p < 0.05$); y un incremento concordante con el colesterol total, OR 1.03 (1.005-1.055) ($p < 0.05$). Tabla 4

4.3.4. Patologías.

Las tres patologías más frecuentes fueron: Traumatismos (22%), Hipertensión Arterial (HTA) en 20% y Úlcera Gastroduodenal (20%).

Tabla 3.-Medidas hematológicas y bioquímicas: Hematocrito (Hct), concentración de hemoglobina (Hb), leucocitos totales, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, triglicéridos, razón de colesterol total/colesterol-HDL. Los valores son promedios \pm DE.

Variables	$\bar{X} \pm DE$
Hct (%)	45.02 \pm 2.7
HB (g/dl)	15.1 \pm 1.0
Leucocitos (por mm ³)	7480 \pm 1848
Colesterol total (mg/dl)	191.3 \pm 39.3
Colesterol- HDL (mg/dl)	40.2 \pm 6.7
Colesterol- LDL(mg/dl)	109.6 \pm 26.9
Triglicéridos (mg/dl)	238.0 \pm 162.8
Col/HDL	4.8 \pm 1.0

Tabla 4.- Variables en el modelo final de regresión logística; variable dependiente triglicéridos (punto de corte $\geq < 150\text{mg/dl}$); coeficiente de regresión (B), error típico de B (ET), OR, intervalos de confianza para OR al 95% y p-valor (p).

Variables	B	ET	OR	95 % CI	p
SaO ₂ 1º día	-0.265	0.129	0.767	0.596–0.967	0.039
Colesterol Total	0.029	0.012	1.030	1.005–1.055	0.018

4.4. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio epidemiológico que busca evaluar de forma integral, el estado de salud en sujetos sometidos a exposición crónica intermitente durante más de 12 años y revela que, a pesar del tiempo transcurrido, aun persiste una reacción aguda a la exposición y un inexplicado aumento de los triglicéridos.

La exposición intermitente a hipoxia hipobárica en forma crónica, a diferencia de la exposición aguda y de la crónica, parece implicar fisiológicamente, el poner a prueba los mecanismos de adaptación crónica y aguda, y después de transcurrido un periodo importante de sus vidas, lograr una aclimatación definitiva con mecanismos adaptativos que lo sustenten (Powell y García, 2000). Pero, nuestros resultados sugieren que a largo plazo la exposición intermitente, no es capaz de disminuir la EAM con cada ascenso y podría tener algunos efectos patológicos menores en la circulación pulmonar. Estos sujetos no llegan a aclimatarse como ocurre en grupos poblacionales que

residen en altitud (León-Velarde y Arregui, 1994). Con este planteamiento y dados los resultados encontrados, se ha dividido la discusión para una mejor comprensión en: fase aguda del impacto, exposición crónica y las ulteriores repercusiones biológicas o sanitarias de ambas.

4.4.1. Respuesta de aclimatación aguda

Las respuestas encontradas en el presente estudio, muestran un patrón de aclimatación, caracterizado por un impacto inicial seguido por la normalización rápida de las variables comprometidas a partir del 2° día. Esta respuesta se aprecia el 1° día de turno con una elevación de la frecuencia cardiaca, junto a una elevación de la presión sistólica y diastólica y una menor SaO₂, con un mayor porcentaje de EAM que lo publicado para recién llegados a la altura (34%) después de 12 horas (Hackett, 2003) y una importante alteración de la calidad de sueño. Este tipo de compromiso inicial es bastante similar a lo descrito para exposición aguda en alpinistas (Hackett, 2003), sin embargo, parece que la respuesta de aclimatación es más rápida en el grupo en estudio (a partir del segundo día) y probablemente esto corresponda al modelo de aclimatación de este grupo intermitente crónico.

Merece mención especial la comparación del comportamiento de la cefalea y de los trastornos del sueño en altura y a nivel de mar, considerando que la cefalea (Hackett, 2003) y el sueño (Weil, 2004) puede considerarse un relevante síntoma marcador de los efectos de hipoxia en altura. Aunque el comportamiento encontrado es similar a lo publicado por Richalet et al, 2002,

en el presente estudio destaca una mayor incidencia de estos síntomas y su casi total desaparición al 2° día, junto a una relativa mayor incidencia de estos síntomas el día previo al turno. Esta última observación, puede representar una especie de fenómeno psicológico del tipo “preagonístico” y que además tiende a presentarse en mayor proporción en los sujetos que desarrollan cefalea en altura ($p < 0.05$); Fig. 1

Estos resultados, muestran claramente que a pesar del tiempo transcurrido (25 años promedio), los sujetos en este tipo de exposición intermitente crónica, aún muestran fenómenos de desadaptación aguda. La razón para la ausencia de aclimatación o acostumbramiento, no está descrita detalladamente en la literatura y puede generar la hipótesis que con este régimen de exposición se pierden o disminuyen (al descender a nivel de mar), algunos mecanismos “rápidos o cortos” de adaptación o incluso puede que en estos casos se encuentran ausentes. Probablemente, la persistencia de EAM en cada ascenso puede indicar alguna probable pérdida de la quimiosensibilidad de los receptores periféricos al transcurrir el tiempo, comparable con los residentes habituales y, como resultado, una pérdida gradual de la respuesta ventilatoria a hipoxia, que es consistente con lo observado de elevadas frecuencias de bajas SaO_2 en el 1° día de exposición. Los mecanismos moleculares para lo anterior, le atribuyen un papel mayor a la transcripción del factor redox-sensible como HIF-1 y la activación de algunos genes específicos (Prabhakar y Kline, 2002), pero la confirmación o no de estos mecanismos están fuera del alcance de este estudio epidemiológico.

Por otra parte, sorprendentemente, nuestros resultados no señalan que la exposición intermitente crónica contribuiría a una disminución del impacto agudo y en especial de la EAM tal y como se ha descrito (Beidleman et al., 2004). Por lo tanto, la falta de una apropiada aclimatización el primer día de exposición se señala como un punto importante a considerar en el estado de salud laboral en éste tipo de exposición, considerando que una parte importante de los sujetos sufrirán los efectos de la altura el primer día.

4.4.2. Respuesta de aclimatación largo plazo

La respuesta de aclimatación a largo plazo en exposición crónica, en sujetos residentes habituales, o no residentes, muestra los siguientes efectos secundarios: una policitemia, una disminución de la presión sistólica, hipertensión pulmonar de altura, Enfermedad de Monge y alteración de la función renal (Monge y León- Velarde, 2003). Para la exposición crónica intermitente, se describe una elevación moderada del hematocrito, una leve dilatación del VD, y mayores presiones de arteria pulmonar (Richalet et al., 2002; Schmidt, 2002; Sarybaev et al., 2003).

La modificación de las variables encontradas en nuestro estudio, muestran bastante coincidencia con la literatura, pero con algunas particularidades que se analizan a continuación. Así, el hematocrito y hemoglobina, alcanza un menor valor (intermedio) en la mayoría de los sujetos respecto a los residentes de altura sobre 4000 m (Vásquez y Villena, 2001), que es similar a lo encontrado en nuestro modelo animal en ratas (Siqués et al.,

2006). En cuanto a la tensión arterial, no se aprecia una respuesta hipertensiva permanente, que sería la tendencia esperada en comparación, con el resultado en la cohorte de mineros (Richalet et al., 2002) y en otros trabajos epidemiológicos que describen una menor presión sistémica en residentes crónicos (Monge y León-Velarde, 2003). Mas aún, el promedio de presión sistólica en el grupo estudiado es menor que el promedio de la población de Chile de la misma edad y género (139 ± 1.5 mm Hg; MINSAL, 2003).

Se describen, elevados niveles de triglicéridos en altura comparados con nivel de mar (Cáceres et al., 1999) y esto también se ha visto en ratas expuestas a hipoxia intermitente (Li et al., 2006), aunque existen publicaciones contradictorias que revelan descenso de los lípidos en general y de los triglicéridos en particular después de una exposición a hipoxia en cámara hipobárica (Tin'kov y Aksenov, 2002). Se ha descrito, una influencia hormonal de los lípidos por la hipoxia (Ferezou et al., 1988), que podría explicar el elevado nivel plasmático de triglicéridos encontrado en este estudio, y también un menor uso de los triglicéridos en la producción de energía en concentraciones bajas de oxígeno (Murray et al., 2003). Debe además agregarse que los promedios de triglicéridos encontrados, son mayores que los promedios de la población general de la misma edad y género (175 mg/dl, MINSAL, 2003), pero que esto es coincidente con los valores encontrados en residentes y nativos de nivel de mar trabajan en altura (Cáceres et al., 2004). Desde el punto de vista biológico, esta elevación pudiera ser el reflejo de una respuesta adaptativa no suficiente a la hipoxia y, a su vez, un probable indicador bioquímico de esta interacción. Esta asociación, se demuestra

claramente al encontrar una correlación negativa entre triglicéridos y SaO_2 ($r = -0.3$ $p < 0.05$).

Complementariamente y para tener una apreciación objetiva del riesgo cardiovascular en esta población, se aprecia que utilizando el índice de Framingham por categorías (Wilson et al., 1998), la puntuación media encontrada es de 4.6 ± 1.2 pts y los sujetos en nuestro estudio muestran un índice promedio de riesgo relativamente bajo (media de posibilidad de evento: 8.6 ± 5.6), y que al compararlos con la población chilena, que utiliza como punto de corte el 10% de riesgo de evento, y estratificar por grupos de mayor o menor riesgo, muestran riesgos similares (43% de sujetos en mayor riesgo) (MINSAL, 2003). De lo anterior puede deducirse, que la exposición a hipoxia intermitente crónica no proporcionara un riesgo cardiovascular especial para este grupo si no se cuenta con los triglicéridos en la ecuación.

Este es el primer estudio epidemiológico que integra varias variables, en sujetos expuestos por razones de trabajo a intermitencia crónica, durante más de 12 años (mayoría > 20 años) a una altura de 3550 m, y muestra que, a pesar del tiempo transcurrido, un elevado porcentaje tiene afectación aguda por la hipoxia el primer día (sin lograr una total aclimatación), pero que se compensa rápidamente al segundo día (probablemente sea el modelo de adaptación). Asimismo, los parámetros hematológicos adquieren una posición intermedia entre la exposición crónica y nivel del mar y resulta relevante la elevación de los triglicéridos. Aunque, estos resultados pueden ser considerados como preliminares, por la ausencia de un grupo control, ellos

contribuyen con información relevante y complementaria al estudio de esta situación laboral y a la construcción de la historia natural de esta condición.

**5. Cambios Hematológicos y de Perfil Lipídico en Nativos de Nivel de Mar
Expuestos por Primera Vez a 3550 m de Altura por 8 Meses**

5. Cambios Hematológicos y de Perfil Lipídico en Nativos de Nivel de Mar Expuestos por Primera Vez a 3550 m de Altura por 8 Meses

5.1. Introducción

La importancia epidemiológica de las poblaciones viviendo en altura surge del hecho que solo en América de Sur, alrededor de 35 millones de personas se encuentran viviendo sobre 2500 m (León-Velarde et al., 2005) y que con el aumento de las actividades productivas y de control de fronteras el ingreso a la altura por razones laborales, de poblaciones jóvenes, nativos de nivel de mar y sin previa exposición, ha ido en aumento.

Las respuestas hematológicas se han mostrado como la primera línea de investigación en esta condición (Monge y León-Velarde, 2003), existiendo abundante información respecto al hematocrito y hemoglobina y su variaciones en relación a la altitud y la edad, en poblaciones de residentes habituales o nativos (Reeves y León-Velarde, 2003). También se ha investigado, pero con menor intensidad, el perfil lipídico que representa un factor importante de riesgo cardiovascular. Del mismo modo, el sistema inmune representado a través de la formula leucocitaria ha sido menos investigado (Thake et al, 2004). Sin embargo, toda esta información acerca de las respuestas está orientada fundamentalmente a exposición aguda o crónica, que difícilmente puede ser extrapolada a esta población emergente (sujetos jóvenes, nativos de nivel de mar y recién llegados a la altura).

La adaptación o aclimatación a la exposición en forma crónica, puede traer como consecuencia eritemias patológicamente elevadas, enfermedad crónica de montaña (prevalencia de un 5% a un 10% en residentes habituales) o hipertensión pulmonar de altura (León-Velarde et al., 2005) y también puede modificar algunos parámetros de riesgo cardiovascular (disminución del colesterol-LDL y aumento del colesterol-HDL) (Domínguez Coello et al., 2000; Cáceres et al., 2004). Adicionalmente, es bien conocido que los ácidos grasos están influenciados en sus procesos metabólicos por la hipoxia, y también por influencias hormonales, tales como catecolaminas y por la temperatura (Vallerand y Jacobs, 1990; Ferozou et al., 1993)

Acerca de un posible compromiso de la función inmunológica, se ha observado mayor incidencia de enfermedades respiratorias tanto en hipoxia aguda (Murdoch, 1995) como en hipoxia crónica intermitente después de 2 años en esta condición (Siqués y Brito, 2001). Los estudios de los leucocitos como representación del sistema inmunológico en condiciones de hipoxia crónica, son escasos y muestran una linfocitosis (Ramos et al., 1971), existiendo más información para la exposición a hipoxia aguda y estos trabajos señalan una leucocitosis inicial que tiende a disminuir en el tiempo (Klokke et al., 1993; Thake et al., 2004).

Debido a la escasa información acerca de las respuestas iniciales en sujetos jóvenes, nativos de nivel de mar y tras llegar a gran altura, fue diseñado el presente estudio epidemiológico especialmente en lo que respecta al perfil lipídico y a la representación del sistema inmune, con el objetivo de determinar

los efectos de la exposición crónica a la altura en el hematocrito, el sistema inmune, a través, de la representación de los leucocitos totales y su formula leucocitaria y en el perfil lipídico de sujetos nativos de nivel de mar, jóvenes, vírgenes a la altura y expuestos a una exposición crónica relativamente larga (8 meses a 3550 m).

5.2. Materiales y Métodos

5.2.1. Grupos de estudio y diseño:

5.2.1.1. Grupo de estudio

Una muestra aleatoria de 50 sujetos varones, reclutas del Ejercito de Chile, edad 17.8 ± 0.7 (rango 16–19) fue utilizada en este estudio de diseño longitudinal. Este grupo fue expuesto por primera vez a la altura y permaneció por 8 meses en la localidad de Putre, Chile (3550 m), con una dieta controlada (3000 Kcal. diarias).

5.2.1.2. Grupo comparativo (GC)

Debido a que obtener las mediciones a nivel de mar, previamente a la exposición, fue impracticable para el grupo estudiado en altura, una muestra aleatoria de otros 50 sujetos jóvenes; con una edad media de 18.9 ± 0.6 (rango 18-20), varones, reclutas de Ejercito de Chile que viven a nivel de mar, (IMC 23.33 ± 0.7), con una dieta controlada (3000 Kcal. Diarias), nunca expuestos a la

altura y en servicio por 8 meses en la ciudad de Iquique, Chile, fueron incluidos para tener valores relativos de residentes de nivel de mar que se pudieran comparar.

Todos los sujetos fueron voluntarios, la metodología fue claramente explicada y se firmó un consentimiento por parte de los participantes. El diseño de este protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile.

5.2.2. Variables

Los siguientes parámetros fueron medidos: Peso (Kg.), talla (m), presión arterial sistólica (PAS, mm Hg), presión arterial diastólica (PAD, mm Hg), frecuencia cardíaca (FR, latidos/min), saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO_2 , %), hematocrito (Hct, %), hemoglobina (Hb, g/dL), recuento de leucocitos totales y su fórmula leucocitaria (mm^3 ; %), perfil lipídico (mg/dl), en altura el 1° día (después de dormir una noche y con 10 hrs. de ayuno) y a los 8 meses (tras 10 horas de ayuno). Las muestras sanguíneas fueron procesadas el mismo día en un laboratorio a nivel de mar.

La presión arterial fue medida en el brazo derecho, utilizando un esfigmomanómetro de mercurio con un mango apropiado, en los sujetos sentados después de 5 minutos de reposo, el promedio de 3 medidas con un intervalo de lectura de 5 minutos, fue utilizado, la frecuencia cardíaca y la SaO_2 fue medida con un sensor de oxímetro de pulso (POX050, Medaid ®). La

muestra sanguínea fue tomada sin ligadura. Para el recuento de las células rojas y blancas se utilizó un contador automático hematológico (Cell-dyn 3700, Technigen®, USA) y para la determinación de los lípidos se utilizó un kit (Chemelex®, Barcelona) en un multi analizador automático (Selectron XL, Technigen®, USA).

5.2.3. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, se utilizó el programa estadístico SPSS, versión 12.0. (SPSS, Inc., Chicago, Ill). Se calcularon los promedios, desviación estándar, error estándar e intervalos de confianza de las medias de cada parámetro. La normalidad de las variables fue establecida utilizando la prueba de Kolmogorov–Smirnov. El análisis estadístico de las diferencias entre los dos periodos estudiados en altura fue realizado con prueba T de muestras relacionadas para las variables normales y para las no normales (frecuencia cardiaca) con la prueba de Wilcoxon. También se establecieron correlaciones entre variables utilizando la correlación de Pearson o de Spearman Rho, se utilizaron, pruebas T de muestras independientes, para analizar las diferencias entre los valores de ambos grupos (altura y grupo comparativo).

Se realizó, un análisis univariante mediante regresión lineal con algunas de las variables estudiadas y para las diferencias de las variables entre los dos periodos, las variables significativas fueron introducidas en un modelo de regresión lineal múltiple, estableciendo como punto de introducción $p < 0.05$ y punto de salida $p < 0.10$. Con el objetivo de observar las asociaciones entre

algunas variables dependientes (dicotomizadas en el valor patológico) y las variables significativas, después de un análisis bi variado se realizó un análisis de regresión logística múltiple. Los odds ratio (OR), se presentan como crudos y también tras ser ajustados mutuamente con sus intervalos de confianza. El nivel de significación fue establecido a un 95% de confianza, p -valor <0.05 .

5.3. Resultados

Las características basales del grupo estudiado, muestran un grupo bastante homogéneo: sujetos muy jóvenes, edad 17.8 ± 0.7 (Rango 16–19), sin sobrepeso (IMC 22.9 ± 0.5), que no se modifica al término del estudio (23.6 ± 0.5 , $p > 0.05$). El grupo comparativo muestra similares características (edad: 18.9 ± 0.6 ; IMC 23.3 ± 0.7).

Se obtuvieron además, complementariamente, algunas variables cardiovasculares para observar si existen asociaciones con las variables hematológicas y metabólicas estudiadas. Las variables medidas en altura en la primera exposición (Día 1°) fueron promedios ($\bar{X} \pm DE$): PAS: 119.4 ± 1.2 , PAD: 77.4 ± 1.0 , FC: 97.4 ± 2.3 y SaO_2 : 84.4 ± 0.6 . Al 8° mes de exposición, la PAS no presentó diferencias (118.1 ± 1.0), pero la PAD estaba levemente elevada (83.1 ± 1.0), la frecuencia cardiaca notoriamente disminuida (74.0 ± 0.9) y se recuperó la SaO_2 (91.2 ± 0.6); $p < 0.001$.

El hematocrito en altura presentó un aumento entre el valor inicial (46.4 ± 0.4) y el 8° mes (51.2 ± 0.4 ; $p < 0.001$), resultado que fue similar para la

hemoglobina (15.5 ± 0.1 a 17.3 ± 0.1 p < 0.001). El grupo comparativo presentó valores similares a los de altura el 1° día (Hct: 43.6 ± 0.5 y Hb 14.6 ± 0.3). En el análisis por clases, destaca que solo un 6% de los sujetos alcanzó valores \geq a 55% de Hct y un 4% Hb \geq a 19 grs./dl, pero ninguno fue \geq a 21 grs./dl. El análisis multivariante mediante regresión lineal de las diferencias de Hb (variable dependiente) muestra una correlación inversa con las diferencias del colesterol total en los dos periodos estudiados, $B -0.003$, $p < 0.01$.

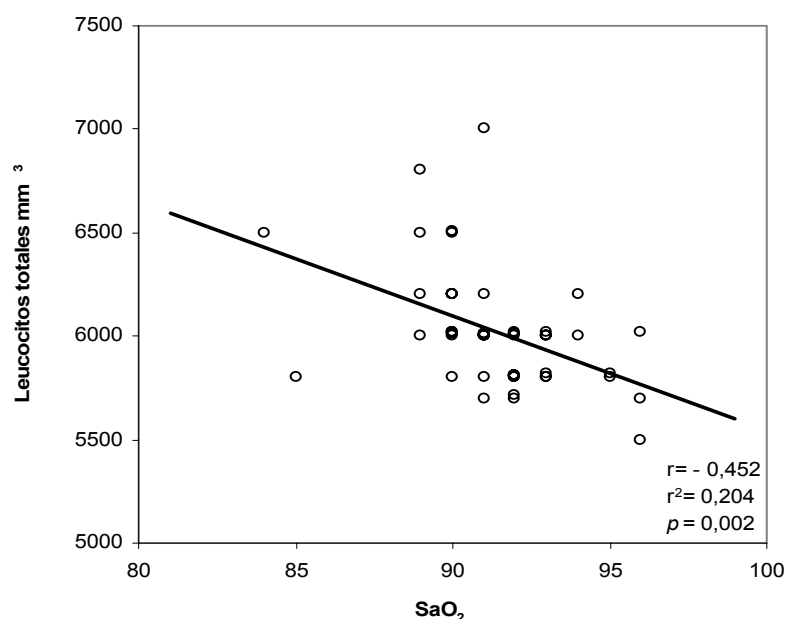
Tabla 5.- Leucocitos totales (mm^3) y formula leucocitaria (%); 1° Día y 8° Mes en altura. Los valores son promedios (\bar{X}) \pm error estándar (EE) y p valor.

	DIA 1°	Mes 8°	
	$\bar{X} \pm \text{EE}$	$\bar{X} \pm \text{EE}$	$p \text{ valor}$
Leucocitos Totales (mm^3)	6037 ± 73.6	6002 ± 43.8	0.680
Neutrofilos (%)	55.2 ± 1.5	50.6 ± 1.3	0.003
Eósinofilos (%)	4.1 ± 0.3	2.6 ± 0.3	<0.001
Basófilos (%)	0.1 ± 0.04	0.0	
Monocitos (%)	6.4 ± 0.3	4.7 ± 0.2	<0.001
Linfocitos (%)	34.2 ± 1.4	42.4 ± 1.2	<0.001

No se encuentran diferencias en el recuento total de leucocitos en los dos periodos de altura estudiados. Sin embargo, los componentes de la fórmula leucocitaria, muestran variaciones en los neutrófilos, eósinofilos y monocitos (disminución) y los linfocitos (aumentan) respecto al primer día de hipoxia

($p < 0.001$). No se encuentran asociaciones entre los leucocitos y su formula leucocitaria con Hct, Hb, PAS, PAD y FC. Tabla 5

Fig. 7.- Relación de leucocitos totales (mm^3) con saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO_2) al 8° mes de altura de 3550 m, Putre, Chile $p < 0.01$.



Sin embargo, se ha obtenido una correlación inversa entre SaO_2 en el 8° mes y los leucocitos totales en ese mismo periodo, $r -0.452$, $r^2 0.204$, $p < 0.01$ (Fig. 7). Además, esta variable aparece como la única significativa en la regresión lineal múltiple (SaO_2 como variable dependiente) (r^2 del modelo: 0.463). Asimismo, en una regresión logística múltiple utilizando un 91% de SaO_2 como punto de corte, también se encuentra una asociación solo con los leucocitos totales, ajustados por tabaco, con un OR: 1.007 por cel/mm^3 de leucocitos. Dado lo anterior, se calculó el OR para 100 cel/mm^3 (OR: 2.05),

señalando que la posibilidad de caer en el grupo de bajas saturaciones aumenta el doble por cada 100 cel/mm³ de aumento de los leucocitos.

Cuando se compara con el grupo comparativo (tabla 7), el recuento de leucocitos totales no muestra diferencias estadísticamente significativas, pero los neutrófilos en altura se encuentran en menor proporción en ambos periodos, siendo esta más marcada al mes 8° de exposición a la altura ($p < 0.001$). Respecto a los linfocitos se observa solo una diferencia al mes 8°, con una mayor proporción que a nivel de mar ($p < 0.001$).

Tabla 6.- Perfil lipídico el 1° Día 1 y 8° Mes en altura, colesterol total (mg/dl), colesterol-HDL (mg/dL), colesterol-LDL (mg/dl) y triglicéridos (mg/dl). Los valores son promedios (\bar{X}), \pm error estándar (EE) y p valor.

	1° Día	8° Mes	
	$\bar{X} \pm EE$	$\bar{X} \pm EE$	p valor
Colesterol Total (mg/dl)	153.8 \pm 4.5	157.3 \pm 5.1	0.361
Colesterol-HDL (mg/dl)	40.5 \pm 1.2	40.7 \pm 1.2	0.866
Colesterol-LDL (mg/dl)	88.4 \pm 3.3	81.0 \pm 3.9	0.044
Triglicéridos (mg/dl)	121.6 \pm 10.9	178.8 \pm 11.7	<0.001
Colesterol/HDL	3.9 \pm 0.1	3.7 \pm 0.1	0.931
HDL/LDL	0.49 \pm 0.03	0.54 \pm 0.03	0.071

El estudio del perfil lipídico en altura muestra un aumento leve del colesterol total no significativo ($p > 0.05$), un descenso del colesterol-LDL

($p < 0.05$) al mes 8°. Sin embargo, los triglicéridos aumentan a valores anormales comparados con el primer día de altura ($p < 0.001$) Tabla 6.

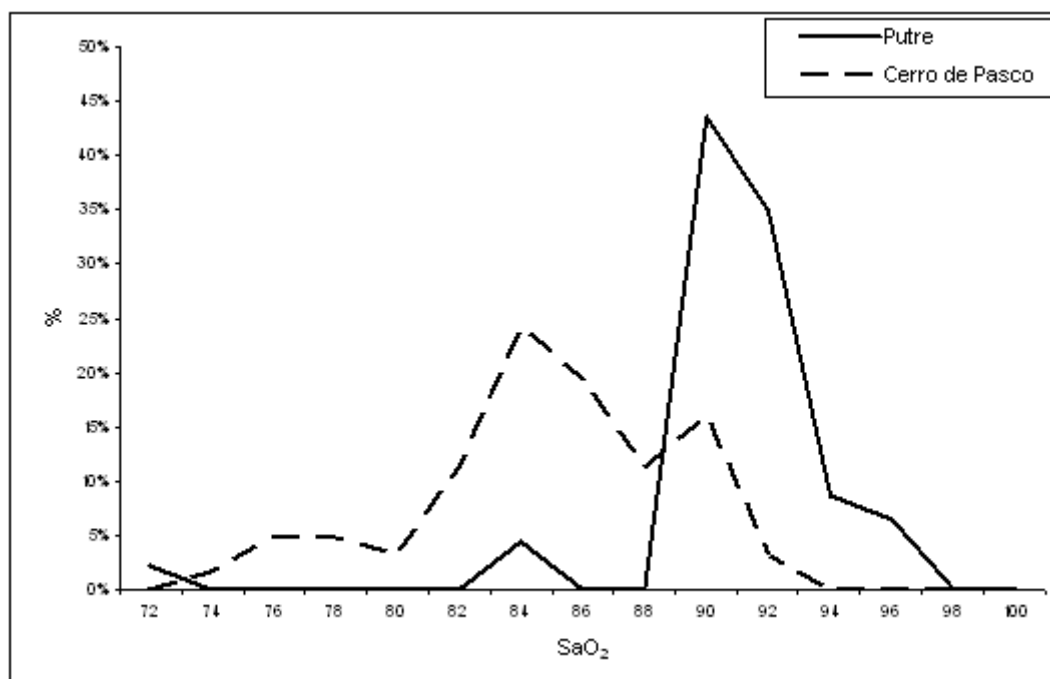
El colesterol total y el colesterol- HDL no muestran diferencias entre altura y el grupo comparativo a nivel de mar. Sin embargo, el colesterol-LDL presenta una menor proporción en altura en los dos periodos y los triglicéridos claramente muestran valores mas elevados en altura ($p < 0.001$)

Para objetivar el riesgo cardiovascular, pese a ser este un grupo de sujetos muy jóvenes y que no se encuentran en edad de riesgo, se opto por la ecuación de Framingham por categorías (Wilson et al., 1998), ya que incluía la presión diastólica y el perfil lipídico. La puntuación inicial fue de -0.22 ± 0.3 y a los 8 meses de 0.58 ± 0.3 , $p < 0.01$, aunque el riesgo de evento CV en ambos periodos permanece menor a 1%.

Tabla 7.- Valores de grupo comparativo a nivel de mar: Leucocitos totales (mm^3) y formula leucocitaria (%); y perfil lipídico: Colesterol Total (mg/dl), colesterol-HDL (mg/dL), colesterol-LDL (mg/dl) y triglicéridos (mg/dl). Los valores son promedios (\bar{X}) \pm error estándar (EE).

Variables	$\bar{X} \pm \text{EE}$
Recuento Total de Leucocitos (mm^3)	7355 \pm 85.2
Neutrófilos (%)	61.9 \pm 1.1
Eósinófilos (%)	1.5 \pm 0.2
Basófilos (%)	0.1 \pm 0.07
Monocitos (%)	2.3 \pm 0.2
Linfocitos (%)	34.2 \pm 1.1
Colesterol Total (mg/dl)	167.9 \pm 3.9
Colesterol-HDL (mg/dl)	42.1 \pm 1.0
Colesterol-LDL (mg/dl)	111.1 \pm 3.0
Triglicéridos (mg/dl)	73.8 \pm 8.5
Colesterol/HDL	3.9 \pm 0.1
HDL/LDL	0.38 \pm 0.04

FIG. 8.- Curvas comparativas de distribución de saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO_2), presente estudio (Putre, 3550 m, 8° mes) y Cerro de Pasco, Perú (4338 m; León-Velarde et al., 1991).



5.4. Discusión

Este estudio realizado en sujetos muy jóvenes, vírgenes a la altura que son expuestos en forma crónica durante 8 meses a 3550 m de altura, muestra una elevación no patológica del hematocrito y hemoglobina, así como un incremento de los triglicéridos y linfocitos, mostrando a los leucocitos durante el 8° mes asociado al valor de la SaO_2 .

Las primeras respuestas cardiovasculares, muestran un impacto frente a la exposición aguda (Día 1°), caracterizados por un aumento de la frecuencia cardiaca y menores saturaciones de oxígeno de la Hb, lo cual es bastante

similar a lo descrito para la exposición aguda, fundamentalmente en recién llegados (Hackett, 2003). No obstante, la frecuencia cardíaca y la SaO_2 muestran valores cercanos a lo esperado para esta altura en el 8° mes, la presencia de una PAD elevada sugiere que estos sujetos aún se encontrarían en proceso de aclimatación, ya que algunas publicaciones muestran que la PAD en altura bajaría discretamente en exposición crónica (Marticorena et al., 1969; Monge y León-Velarde, 2003).

5.4.1. Hematocrito y hemoglobina

En hipoxia crónica hipobárica los valores hematológicos (hematocrito y hemoglobina), juegan un rol fundamental como indicador de adaptación y como predictor de enfermedad (Villafuerte et al., 2003; Reeves y León-Velarde, 2004; Siqués et al., 2006). Sin embargo, existe una gran variabilidad en los valores esperados a diferentes alturas y edades (Garrutto y Dutss, 1983; León-Velarde et al., 2000; Villafuerte et al., 2003), existiendo actualmente un consenso respecto a los valores patológicos (León-Velarde et al., 2005).

En el presente estudio, el hematocrito y la hemoglobina muestran una elevación a valores muy similares a los publicados para poblaciones andinas en similares grupos de edad (León-Velarde et al., 2000; Vasques y Villena, 2001; Heinicke et al., 2003) y para edades cercanas (Winslow et al., 1989;) y por otra parte no alcanzan niveles patológicos, resultados probablemente explicados por la edad y el periodo expuesto del grupo.

Por otra parte, la relación entre Hb como transportador de O_2 y la SaO_2 ha sido también profusamente estudiada por su aparente y estrecha relación con la capacidad de responder del individuo a las condiciones de hipoxia (Monge y Leon-Velarde, 2003). Diversos autores encuentran una correlación entre Hb y SaO_2 (Reeves y Weil, 2001; Wood et al., 2003; Monge y León-Velarde, 2003), señalando que existe un rango de eficiencia de la Hb (15–18 mg/dl) y valores superiores no mejorarían dicho transporte (Villafuerte et al., 2003; Reeves y Leon-Velarde, 2004). Nuestros resultados no muestran esta correlación, r 0.11 ($p > 0.05$), apreciándose un estrecho rango de variación de la saturación representado por una curva leptocurtica, de distribución no normal estadísticamente, que podría explicar la diferencia con lo publicado, mientras que poblaciones de mayor edad, tal como la de Cerro de Pasco, Perú, alcanzan mayor variabilidad y con una distribución normal, (Fig 8; León-Velarde et al., 1991).

Además, algunas diferencias muestrales podrían contribuir a este resultado: sujetos muy jóvenes y con un rango de edad muy estrecho (la edad para este grupo actúa como variable de control), sanos, con un periodo de exposición poco prolongado y con saturaciones superiores a las esperadas para esa altura (Hackett y Roach, 1995). Así, la edad explicaría por si sola buena parte de este resultado, ya que se esperan en estas poblaciones menores valores de hemoglobina y mejores respuestas ventilatorias. (León-Velarde et al., 2000; Reeves y Weil, 2001; Monge y León-Velarde, 2003). Lo que si queda demostrado es una gran variabilidad de hemoglobina sin valores

patológicos, para un mismo rango de saturación, como ha sido señalado por, Reeves y Leon-Velarde, 2004.

Adicionalmente, se encuentra una débil relación ($B -0.003$; $p < 0.05$) entre las diferencias de hemoglobina, con las diferencias del colesterol y que tiene como propósito adicionar información a la discusión de la utilización de los lípidos y la influencia de los transportadores de O_2 ; de hecho, se describe una relación entre el hematocrito y el colesterol (Bottiger y Carlson, 1972; Temte, 1996).

5.4.2. Leucocitos

El estudio del efecto de la hipoxia en los leucocitos y su fórmula leucocitaria, como representación del estado de activación del sistema inmunitario ha sido menos estudiado que el hematocrito y la hemoglobina (Thacke et al, 2004), probablemente debido a que la multifactoriedad de su comportamiento hace difícil separar y atribuir su modificación a una variable específica (Dhabhar et al., 1996). No obstante, en hipoxia hipobárica es presumible esperar una modificación de esta importante “representación inmunológica”, a la vez que se describe en altura una mayor incidencia de enfermedades respiratorias infecciosas o virales en escaladores (Murdoch, 1995), así como en mineros en hipoxia crónica intermitente (Siqués y Brito, 2001). Además, la combinación de altura (ambiente) e hipoxia representan un potente estímulo de estrés inmunitario (Thacke et al, 2004).

La mayoría de los trabajos reportados, en periodos breves o agudos, muestran una leucocitosis inicial seguida de una neutrofilia relativa y linfopenia. Este efecto está modulado por las hormonas de estrés (catecolaminas y cortisol) (Richalet et al., 1989; Klokke et al., 1993) y probablemente por una influencia de la ventilación (Thacke et al., 2004). En hipoxia crónica, la poca información disponible es difícil de comparar, debido a metodologías y exposiciones muy diversas. Esta muestra desde una alteración en la fórmula leucocitaria (Facco et al., 2005), ausencia de efectos (Beidleman et al., 2006) hasta valores dentro de un rango normal, pero que disminuyen al descender los sujetos a nivel del mar (Ramos et al., 1971).

El presente estudio no muestra cambios en el recuento total de leucocitos, pero sí una relativa linfocitosis, descartada la enfermedad clínica, comparado con la medición inicial y con el grupo comparativo. Además, resulta interesante, y algo nuevo, la moderada correlación inversa encontrada entre la SaO_2 y leucocitos en el 8° mes, y la asociación encontrada para esto último tanto en la regresión lineal como logística. No puede ser respondido por este estudio, si ambos resultados son una manifestación de un fenómeno crónico (inflamación) o el reflejo de una aclimatación en curso. Sin embargo estos resultados, a pesar de sus limitaciones (gran variabilidad intrasujetos factores ambientales y primera muestra en altura), sugieren una influencia de la exposición en la respuesta de los leucocitos con una alteración potencial en el sistema inmune como ha sido descrito para hipoxia aguda (Thacke et al., 2004). Asimismo, ellos suscitan una preocupación acerca de las posibles

consecuencias de las alteraciones del sistema inmune en hipoxia crónica en el ambiente clínico.

5.4.3. Perfil lipídico

Desde el punto de vista epidemiológico han sido estudiados, los lípidos plasmáticos y su relación con la altura, con el propósito de determinar su influencia en el riesgo cardiovascular, puesto que este tipo de exposición elevaría el colesterol-HDL y disminuirá el colesterol-LDL (Sharma, 1990; Domínguez Coello et al, 2000, Cáceres et al., 2004; Cabrera de León et al., 2004). No obstante, se observa una gran variabilidad en los resultados, desde un aumento del colesterol total y sus fracciones (Jha et al., 2002; Temte, 1996; Baibas et al., 2005) a un valor similar o menor que a nivel del mar (Rotta et al., 1996; Cáceres et al., 2004; Tin'kov y Aksenov, 2002). Por otra parte, resulta particularmente difícil comparar dados la diversidad de las poblaciones, alturas y tipos de exposición (Tabla 8).

En general, la mayoría de los trabajos publicados tienden a coincidir en una disminución o similitud de valores del colesterol total y sus fracciones y una relación positiva con la edad. En cuanto a los triglicéridos, algunos autores muestran valores mayores que a nivel del mar pero no siempre patológicos (Cáceres et al., 2004), aunque en hipoxia aguda se han encontrado disminuidos (Ferezou et al, 1988).

Tabla 8.- Revisión de valores de perfil lipídico de acuerdo a localización geográfica, muestra, edad, tipo de exposición, altura, referencia y variables (Colesterol Total (mg/dl), colesterol-HDL (mg/dl), colesterol-LDL (mg/dl) y triglicéridos (mg/dl).

Región	Muestra	Altitud (m)	Referencia	Variables	$\bar{X} \pm DS$
Francia	Montañistas, aguda, 3 semanas 28 – 39 años; n = 8	4800	Ferezou et al., 1988	Colesterol total	143.8 \pm 9.5
				Colesterol-HDL	52.1 \pm 4.8
				Colesterol-LDL	82.7 \pm 5.4
				Triglicéridos	51.5 \pm 7.2
Perú (Morocha)	Nativos de altura 20 – 69 años; n = 206	4540	Rotta et al., 1965	Colesterol total	182.4 \pm 36
India	10.2 meses, soldados con Accidente cerebro vascular (ICTUS) < 45 años; n = 30	Sobre 4000	Jha et al., 2002	Colesterol total	186.5
Chile (Putre)	Recién llegados, crónicos, 8 meses, 16 -19 años. n=50	3550	Presente estudio	Colesterol total	157.3 \pm 5.1
				Colesterol-HDL	40.7 \pm 1.2
				Colesterol-LDL	81.0 \pm 3.9
				Triglicéridos	178.8 \pm 11.7
Rusia	Exposición Intermitente, cámara hipobárica, pacientes coronarios, 10 meses, 36 – 68 años; n = 37	3500	Tin'kov y Aksenov, 2002	Colesterol total	200.3 \pm 4.6
				Colesterol-HDL	49.9 \pm 1.9
				Colesterol-LDL	137.3 \pm 5.4
				Triglicéridos	146.1 \pm 7.9
Perú (Cuzco)	Residentes permanentes 20 – 29 años; n = 120	3350	Cáceres et al., 2004	Colesterol total	179.9 \pm 14.9
				Colesterol-HDL	51.1 \pm 3.2
				Colesterol-LDL	100.7 \pm 13.7
				Triglicéridos	116.3 \pm 5.4
USA (Leadville)	Residentes permanentes \bar{X} edad: 44 \pm 7; n = 153	3105	Temte, 1996	Colesterol total	190 \pm 3
				Colesterol-HDL	46.5 \pm 1.5
				Colesterol-LDL	111 \pm 3.1
				Triglicéridos	172 \pm 7.1
Perú (Cajamarca)	4 o más años de residencia 18 -28 años; n= 120	2800	Olivera y Díaz,1971	Colesterol total	210.6 \pm 3.5

El perfil lipídico encontrado en este trabajo, no muestra una variación del colesterol plasmático total, siendo similar al grupo comparativo y a la población de Chile (Encuesta Nacional de Salud: hombres, edad 17-24 años; colesterol total: 153 mg/dl, colesterol-HDL: 43.5 mg/dl, colesterol-LDL: 92.2 mg/dl y triglicéridos: 105.1 mg/dl; MINSAL, 2003), pero se encuentra un poco mas bajo que lo que se describe en la literatura (tabla 4). Sin embargo, se debe mencionar una modesta disminución del colesterol-LDL en altura, alcanzando valores menores que el grupo comparativo y la población de Chile, resultados que son coincidentes con los señalados para poblaciones que viven permanentemente en altura (Sharma, 1990; Cáceres et al., 2004).

La elevación de los triglicéridos encontrada no presenta una correlación con el IMC o colesterol total, como tradicionalmente debería esperarse, y el valor obtenido en el 8° mes es significativamente mayor que el grupo comparativo (con ingesta de la misma cantidad de Kcal. diarias) y para la población de Chile de la misma edad (MINSAL, 2003), lo que orientaría hacia una influencia directa de la hipoxia. La relación de la hipoxia y el catabolismo de los triglicéridos y sus niveles circulantes, han sido encontradas en hipoxia aguda e intermitente como una alteración de la oxidación de lípidos y una menor actividad de las triglicéridos-hidrolasas a nivel hepático (Ferezou et al, 1988). También, la temperatura ha sido señalada como un factor importante en una mayor degradación de triglicéridos en los músculos y tejido adiposo (Vallerand y Jacobs, 1990). Ambas condiciones (hipoxia y temperatura) pueden sumarse o presentar una sinergia en altura y si la tendencia hacia valores

elevados de triglicéridos en altura se confirma (como este estudio y otros señalan), se genera una nueva preocupación epidemiológica.

Complementariamente, se decidió evaluar el riesgo cardiovascular utilizando la ecuación de Framingham por categorías, aun cuando en jóvenes menores de 20 años es menor a un 1% (Wilson et al., 1998), solo con el propósito de contar con un parámetro comparable a futuro, encontrando un aumento significativo de la puntuación sin aumento del riesgo relativo. La edad de este grupo limita hacer cualquier interpretación definitiva de este resultado, pero parece importante insistir en la necesidad de diseñar una ecuación específica para evaluar riesgo cardiovascular en poblaciones que viven en altura, como ha sido señalado en otros estudios epidemiológicos (Domínguez Coello et al., 2000).

Este estudio epidemiológico presenta los cambios en hematocrito, leucocitos y perfil lipídico en una población de sujetos muy jóvenes, nativos de nivel de mar, recién llegados a la altura y expuestos por 8 meses en forma crónica a 3550 m. Se aprecia una moderada elevación no patológica del hematocrito y hemoglobina, una neutropenia relativa, una linfocitosis, una disminución discreta del colesterol-LDL y un aumento de los triglicéridos. No se encuentra correlación entre la SaO_2 y la hemoglobina, como ha sido descrito previamente y además se observa una asociación entre los leucocitos totales y el valor de la SaO_2 . La edad de los sujetos podrían explicar, por si misma, algunos de los resultados, pero el hecho de ser diferentes al grupo de comparación a nivel de mar, nos sugiere que estos cambios pueden ser un

resultado de la contribución de la hipoxia presente en esta situación y genera algunas preocupaciones epidemiológicas acerca del comportamiento del sistema inmune y los ácidos grasos en altura, pero también, podrían representar el proceso de aclimatación a la hipoxia crónica en este tipo de poblaciones.

6. Discusión General

6. Discusión General de la Tesis

La presente Tesis Doctoral, surge desde un problema de salud laboral en Chile, como es la exposición de individuos a hipoxia hipobárica crónica intermitente a gran altura y la exposición de sujetos muy jóvenes, nativos de nivel de mar, vírgenes a la altura que se exponen a vivir en condiciones de cronicidad por prolongados periodos. Ambas condiciones son de reciente aparición y de las cuales se cuenta con poca información, respecto al comportamiento de sus variables cardiovasculares y hematológicas. Por lo anterior, se plantearon para esta tesis tres investigaciones en dos líneas de trabajo: las dos primeras investigaciones, para el estudio de la hipoxia hipobárica crónica intermitente en gran altura y a largo plazo, con un estudio experimental en ratas, cuyo objetivo era determinar la evolución de los efectos cardiovasculares y hematológicos en un largo periodo, que en humanos sería un proceso muy complejo, y un segundo estudio, en que se analizaron estas variables, a través de un estudio transversal en seres humanos expuestos por varios años.

La segunda línea de investigación, fue el estudio de hipoxia hipobárica crónica, de las mismas variables, mediante un diseño longitudinal para observar las primeras respuestas de sujetos jóvenes expuestos a la altura crónica por primera vez. Por otra parte, como cada objetivo fue planteado en un apartado y sus resultados discutidos en el apartado correspondiente, se hace necesaria la integración de algunos resultados más destacados para obtener una visión global del tema.

La exposición intermitente a hipoxia hipobárica en forma crónica, a diferencia de la aguda y de la crónica, pareciera implicar fisiológicamente, el poner a prueba los mecanismos de adaptación crónica y aguda y después de transcurrido un periodo importante de sus vidas, lograr una aclimatación definitiva con mecanismos adaptativos que lo sustentan (Powell y García, 2000). Los resultados de la presente tesis, muestran que la exposición a la altura presenta respuestas comunes ya conocidas y otras que señalan bastante claramente, que la exposición en forma intermitente crónica a la altura es ciertamente una condición específica.

6.1. Hematocrito y Hemoglobina

Los resultados encontrados en hipoxia hipobárica crónica intermitente a largo plazo, tanto en el modelo experimental en ratas como en el estudio transversal en humanos a largo plazo, considerando las limitaciones en su comparación, nos permiten señalar una similitud en las respuestas hematológicas en hipoxia hipobárica crónica intermitente, ya que se observa una elevación tanto del hematocrito como de la hemoglobina, pero se demuestra que esta respuesta hematológica es menos intensa que la publicada para una exposición crónica (León Velarde et al., 2000; Monge y León-Velarde, 2003, Reeves y León-Velarde, 2004), ubicándola en una posición intermedia entre el valor correspondiente en la exposición crónica y el encontrado a nivel de mar.

Esta respuesta distinta, que ha sido sugerida por algunos autores (Richalet et al., 2002), en observación a menos de tres años y otros estudios de

mas largo plazo en poblaciones chilenas (Heinecke et al., 2003), se confirmaría por los presentes resultados, constituyendo una aportación importante y novedosa en la discusión del tema, ya que la policitemia inducida por este tipo de exposición a la altura es significativa, pero menor que aquella observada en residentes permanentes de cotas altas, ya que en sujetos masculinos, son frecuentes valores de hematocrito superiores a 50% (León-Velarde et al., 2000, Vásquez y Villena, 2001).

La importancia de esto, radica que como consecuencia de los ambientes hipóxicos, los residentes de gran altura desarrollan numerosas respuestas fisiológicas, incluyendo en particular un aumento de la concentración de hemoglobina (Hurtado, 1964; Monge y Whittembury, 1976; Antezana et al., 1982). Las grandes elevaciones de la hemoglobina, están asociadas en estos residentes con hipoxias severas y con enfermedades potencialmente fatales (Hurtado, 1942, Monge et al, 1928, Peñaloza y Sime, 1971, Wislow y Monge, 1987). Es materia de consenso, que para definir enfermedad crónica de montaña, patología que fue descrita por el Dr. Carlos Monge (Monge et al., 1928), se requiere la presencia de una hemoglobina excesiva (León-Velarde et al 2005).

Esta enfermedad, que se produce por una estimulación de la eritropoyesis, también se considera que podría influir en la elevación de la presión de la arteria pulmonar (Peñaloza et al, 1971). Este síndrome clínico se presenta en alturas superiores a los 2500 m y se caracteriza por valores de hemoglobina superiores a 21 gr/dl e hipoxemia grave, que finalmente puede

producir un fallo cardíaco derecho fatal (cor pulmonale). De manera que la asociación hematocrito y hemoglobina es clara e indisoluble en esta patología hipóxica, así, se describe una correlación entre Hb y SaO₂ (Reeves y Weil, 2001; Wood et al., 2003; Monge y León-Velarde, 2003), señalando que existe un rango de eficiencia de la Hb (15–18 mg/dl) y que valores superiores, no mejorarían dicho transporte (Villafuerte et al., 2003; Reeves y Leon-Velarde, 2004). Esta correlación, se estudió en el grupo de sujetos jóvenes en periodo prolongado de hipoxia crónica y no fue evidenciada en nuestros resultados, probablemente por el estrecho rango de variación de la saturación, que podría explicar la diferencia con lo publicado, mientras que poblaciones de mayor edad, como la de Cerro de Pasco, Perú, alcanzan una mayor variabilidad (León-Velarde et al., 1991). Por otra parte, en estos mismos sujetos, las elevaciones encontradas dentro de rangos no patológicos, de hematocrito y hemoglobina, también estarían explicadas por la edad, ya que se esperan en estas poblaciones valores menores de hematocrito y hemoglobina y mejores respuestas ventilatorias. (León-Velarde et al., 2000; Reeves y Weil, 2001; Monge y León-Velarde, 2003).

Este estudio ha confirmado a nivel experimental, que el valor del hematocrito tiene un papel, como indicador no solo de cambios de adaptación, sino también de pronóstico en hipoxia crónica intermitente, tal como ha sido señalado para la exposición crónica (Ruiz-Arguelles et al., 1980; Rivera et al., 1997; León Velarde et al., 2000; Calbet et al., 2002). Además se entregan ciertos parámetros objetivos para ello, como que las ratas que fallecen

presentan 7.1% más de hematocrito, en promedio, comparadas con aquellas que no fallecen.

Este valor pronóstico del hematocrito, sumado a la disminución de peso en las ratas fallecidas en hipoxia crónica intermitente (30% de peso menor), ha permitido adicionalmente clasificar o determinar tolerancia en otros experimentos. Así, mediante esta clasificación se ha logrado establecer a nivel bioquímico y molecular diferencias entre aquellas ratas “tolerantes” e “intolerantes”, de acuerdo a estos criterios, en el área de la expresión de enzimas que modulan la producción del óxido nítrico (vasodilatador) y la utilización de la arginasa (López et al., manuscrito en preparación), validando así este modelo.

En consecuencia, lo observado en estos estudios, permite afirmar que en hipoxia hipobárica intermitente, el hematocrito y la hemoglobina, alcanzan y mantienen niveles no patológicos, lo que trasladado al campo laboral haría resaltar que este tipo de exposición, produciría menos patologías derivadas de la policitemia. Además de permitir la clasificación dentro de una misma especie, entre individuos tolerantes e intolerantes a la hipoxia.

6.2. Presión arterial

Las respuestas cardiovasculares se encuentran descritas en la literatura, con resultados muy diversos dependiendo del tipo de exposición y de la altura, describiéndose también diferentes respuestas en hipoxia aguda y crónica. En exposición intermitente en humanos se puede establecer que existen, una

primera situación de tipo agudo, una segunda situación que ocurre durante la exposición, una tercera situación a nivel del mar y una cuarta situación que es la permanencia en esta condición en el tiempo.

La presión arterial, en el modelo animal, que solo mide la PAS, no muestra una elevación en esta condición de intermitencia a largo plazo, comportándose igual que el grupo normoxico, con un aumento de la PAS al final del estudio, probablemente explicado por el envejecimiento del grupo. Este resultado es coincidente con las publicaciones tanto en humanos como animales, en que la presión arterial en altura, al inicio aumenta, por la activación del sistema simpático (Calbet et al., 2003, Kanstrup et al., 1999) y de los quimiorreceptores periféricos (Lahiri, 1980; Bernardi et al., 1998) y que luego disminuye a medida que la exposición continua tanto en humanos (Marticorena et al., 1969), como en ratas (Myles y Ducker, 1971).

Sin embargo, no debe dejar de destacarse como una debilidad de este estudio que la presión arterial en el modelo animal, solo pudo ser medida una vez descendida de la altura y también, que los resultados son los promedios de las ratas que sobrevivían al experimento o “tolerantes naturales”. Por lo que, al estudiar por separado las ratas tolerantes e intolerantes pudiera establecerse otro tipo de patrón de respuestas, quedando abierta una área de investigación para establecer en forma definitiva si la respuesta en largo plazo a la hipoxia se diferencia de acuerdo a la susceptibilidad de los individuos a la hipoxia.

Comparado, con el estudio en sujetos durante más de 12 años en intermitencia, los valores de presión arterial tanto PAS como PAD de estos sujetos, se encuentran en valores dentro de los considerados como óptimos (Chobanian et al, 2003), comportándose de una manera similar al modelo animal. No obstante, debe señalarse como un importante resultado de esta investigación, que el valor de tensión arterial encontrado el primer día de altura, es levemente superior, al que alcanzan estos mismos sujetos a nivel del mar. Esta respuesta de tensiones arteriales elevadas en altura durante los primeros momentos de la exposición, que se explicarían claramente por la respuesta del sistema simpático al stress hipóxico (Calbet et al., 2003; Kanstrup et al., 1998), no solo demuestra que a pesar del tiempo transcurrido no se ha logrado una adecuada aclimatación en este parámetro, sino que se levanta una inquietud que no es posible responder en este estudio, acerca de si esta condición mantenida por largos años podría representar un potencial riesgo cardiovascular, aunque, la prevalencia de hipertensión arterial, encontrada en estos sujetos aparece mas bien baja para la edad, comparadas a la prevalencia nacional en un grupo etario similar (MINSAL, 2003).

Nuestras observaciones son bastante coincidentes con las descripciones del comportamiento de la presión arterial (valores en rangos óptimos) en residentes habituales de la región de América del Sur en cotas altas (Monge y León Velarde, 2003) y con lo encontrado en mineros expuestos a esta condición de intermitencia, que a los dos años de observación también se encuentra la presión arterial mas elevada en altura que cuando descienden a nivel del mar (Richalet et al, 2003), sin estar dentro de rangos patológicos.

Asimismo, las respuestas cardiovasculares encontradas en el grupo de intermitentes, muestran un doble patrón de aclimatación (Powell y Garcia, 2000), uno en relación al largo plazo y otro en el impacto a la exposición aguda (inicio del turno), que se caracteriza por una alteración de estas variables en forma inicial seguido por la normalización rápida de las variables alteradas a partir del 2° día. Esta respuesta que se aprecia el 1° día turno, junto con una elevación de la frecuencia cardíaca y una menor SaO_2 , similar a lo descrito para exposición aguda en alpinistas (Hackett, 2003), pero que a diferencia de lo publicado, la normalización de las variables (a partir del segundo día) es más rápida y puede representar el probable modelo final de aclimatación a esta condición.

Complementando la visión en esta variable, se pudo apreciar que en el grupo de jóvenes en exposición crónica no muy prolongada, la respuesta de aclimatación en esta variable es diferente a la obtenida en intermitencia, tanto en el modelo experimental, como en la observación a largo plazo. Lo que muestra, que en estos sujetos ambas presiones se mantienen elevadas, aún a los 8 meses, fundamentalmente a expensas de la presión diastólica. Contrastando con el descenso esperado, descrito para sujetos de nivel del mar que suben a residir a grandes alturas (Marticorena et al., 1969), aunque se describen solo a partir de los 2 años de residencia y en sujetos nativos de altura (Monge y León-Velarde, 2003). Los resultados del presente estudio, revelarían la persistencia de la activación simpática y de la presencia de niveles de noradrenalina como ha sido publicado hasta 3 meses de exposición, no

existiendo publicaciones a mas largo plazo (Calbet et al, 2003). Asimismo, este tipo de respuesta, hace plantear la pregunta sobre el momento del cambio regulatorio o aclimatación en sujetos muy jóvenes, o que lo observado, pueda corresponder a la existencia de un grupo de sujetos intolerantes y que no logran adaptación (Hackett, 2003), destacando que los sujetos de este estudio provienen de la población general, sin una selección específica para la altura.

En consecuencia, los resultados de nuestros estudios en la presente Tesis, permiten afirmar que respecto a la presión arterial, en hipoxia hipobárica intermitente crónica a largo plazo, se presentan valores dentro de rangos óptimos, sin embargo, existe una respuesta aguda el primer día de exposición de la cual se desconocen sus implicaciones en la salud a largo plazo. Además, en los sujetos expuestos en forma crónica, los hallazgos permitirían sugerir la presencia de grupos intolerantes o que aun se encontrarían en proceso de aclimatización, más allá de lo publicado hasta ahora.

6.3. Leucocitos

El estudio del efecto de la hipoxia en los leucocitos y su fórmula leucocitaria, como representación del estado de activación del sistema inmunitario, ha sido menos estudiado que el hematocrito y la hemoglobina (Thacke et al, 2004), probablemente debido a que la multifactoriedad de su comportamiento hace difícil separar y atribuir a una variable específica cualquier cambio en este parámetro (Dhabhar et al., 1996). No obstante, en hipoxia hipobárica es presumible esperar una modificación de esta importante “representación inmunológica”, a la vez que se describe en altura una mayor

incidencia de enfermedades respiratorias infecciosas o virales en escaladores (Murdoch, 1995) y en mineros, en hipoxia crónica intermitente (Siqués y Brito, 2001). Además, la combinación de altura (ambiente) e hipoxia representan un potente estímulo estresante (Thacke et al, 2004).

La mayoría de los trabajos, que investigan la respuesta leucocitaria, han sido realizados en periodos breves y fundamentalmente en hipoxia aguda y en muestras relativamente pequeñas, describiéndose una leucocitosis inicial que es seguida de una neutrofilia relativa y de una linfopenia. Este efecto, se describe como modulado por las hormonas de estrés (catecolaminas y cortisol) (Richalet et al., 1989; Klokke et al., 1993) y se postula también una probable influencia de la ventilación (Thacke et al, 2004), que como se conoce sufre de modificaciones tanto en la respuesta aguda como en la crónica (Prabhakar y Kline, 2002). Por otra parte, en hipoxia crónica, la poca información disponible es bastante difícil de comparar, debido a que las metodologías y los tipos de exposiciones son muy diversas, y estas publicaciones describen, desde una alteración en la fórmula leucocitaria con linfopenia (Facco et al., 2005), ausencia de efectos (Beidleman et al., 2006), hasta valores dentro de un rango normal, pero que disminuyen al descender los sujetos a nivel del mar (Ramos et al., 1971).

El comportamiento del recuento de leucocitos, en la presente investigación, muestra, primero en el modelo animal de hipoxia intermitente, una respuesta diferente para los turnos cortos (de menor exposición en altura) que se asemeja a la del control a nivel de mar y que en los turnos largos (de

mayor exposición en altura) es mas semejante a la de los crónicos, igualándose las respuestas en el último periodo del estudio. Esta última observación, es bastante coincidente con la ausencia de alteración del recuento total de leucocitos, encontrado en el grupo de sujetos sometidos a este tipo de condición intermitente por un periodo prolongado, aunque puede estar influido por haberse tomado la muestra a nivel de mar, siendo esto una posible limitación de este resultado, que no permite sacar todas las conclusiones que probablemente este hecho traería consigo.

Tampoco, se observan cambios en el recuento total de leucocitos, en el grupo de sujetos jóvenes expuestos a hipoxia crónica por 8 meses, pero si una relativa linfocitosis, descartada la enfermedad clínica, al comparar con la medición inicial y con el grupo control, lo que señala una probable influencia de la exposición crónica, en contraste con los resultados en exposiciones agudas como se mencionara, y que describen una linfopenia por efectos hormonales del sistema cortico-adrenal (Richalet et al 1989).

Apoyando, la probable influencia de la hipoxia en la respuesta leucocitaria, resulta interesante y algo nuevo, la moderada correlación inversa encontrada entre la SaO_2 y el recuento total de leucocitos en el 8° mes, tanto en una regresión lineal como logística multivariante, no obstante las limitaciones de estos resultados (gran variabilidad intrasujetos, factores ambientales y primera muestra en altura), lo cual además sugiere una influencia de la exposición crónica, en la respuesta de los leucocitos. Asimismo, estos resultados, sustentan una preocupación acerca de las posibles

consecuencias en alteraciones del sistema inmune en el ambiente clínico. Finalmente, si estos resultados son una manifestación de un fenómeno crónico (inflamación) producto de la hipoxia o el reflejo de una aclimatación en curso por mecanismos no totalmente aclarados, no puede ser respondido en este estudio y son materia de futuras investigaciones.

6.4. Perfil Lipídico

Desde el punto de vista epidemiológico, los lípidos plasmáticos y su relación con la altura han sido estudiados con el propósito de determinar su influencia en el riesgo cardiovascular. Nuestros resultados, muestran ciertas similitudes, en los dos grupos humanos estudiados, tanto en el grupo intermitente a 12 años como en el grupo de jóvenes en cronicidad. Primero, no se encuentra una elevación del colesterol total, del colesterol-HDL ni del colesterol-LDL, aunque este último se encuentra en valores mas bajos comparados con poblaciones similares a nivel de mar de la misma edad y género (MINSAL, 2003). Este último resultado, es coincidente, con lo publicado para poblaciones que viven permanentemente en alturas menores a las de la presente Tesis (Sharma, 1990; Domínguez Coello et al., 2000, Cáceres et al., 2004; Cabrera de León et al., 2004), aunque se ha descrito que este tipo de exposición elevaría el colesterol-HDL, resultado no encontrado en nuestras investigaciones. No obstante, se observa una gran variabilidad en los resultados en la literatura, que van desde un aumento del colesterol total y sus fracciones (Jha et al., 2002; Temte, 1996; Baibas et al., 2005) a un valor similar o menor que a nivel del mar (Rotta et al., 1996; Tin'kov y Aksenov, 2002; Cáceres et al., 2004), resultando particularmente difícil de comparar dado la

diversidad de las poblaciones, alturas y tipos de exposición. En general, la mayoría de los trabajos publicados, tienden a coincidir en una disminución o igualdad de valores del colesterol total y sus fracciones y una relación positiva con la edad. En consecuencia, parecería que la influencia de la hipoxia en el colesterol y sus fracciones es un tema aún no resuelto, probablemente por lo difícil que resulta la discriminación entre variables tan influyentes, aparte de la edad, como la dieta, el ejercicio, factores étnicos, IMC, etc.

Sin embargo, a diferencia del colesterol, los triglicéridos se encuentran elevados en las dos condiciones hipoxicas estudiadas en humanos, con valores superiores a lo considerado como patológicos en ambos grupos, y más elevados que los valores que presentan poblaciones similares a nivel de mar (MINSAL, 2003). Esta elevación, si bien podría estar explicada por la dieta u otro factor, la ausencia de correlación con el IMC, tabaco, la dieta controlada en ambos grupos y además de encontrarlo también elevado en los grupos jóvenes, orientan fuertemente a una contribución de la hipoxia en este valor. Estos resultados se encuentran coincidentes con los estudios epidemiológicos, en poblaciones andinas, que señalan valores mayores que a nivel del mar y no siempre patológicos (Cáceres et al., 2004).

Por otra parte, apoya a la hipótesis de la influencia hipóxica, el encontrar en nuestros resultados una asociación entre los triglicéridos y la SaO_2 , mostrando que los grupos con menores saturaciones de O_2 tienen mayores probabilidades de estar en el grupo de los que tienen mayores niveles de triglicéridos, abriendo una nueva interrogante respecto al comportamiento de

esta variable. Refuerza lo anterior, las descripciones de la influencia hormonal de los lípidos como producto de la hipoxia (Ferezou et al., 1988) y también un menor uso de los triglicéridos en la producción de energía a concentraciones bajas de oxígeno (Murray et al., 2003). Igualmente, la temperatura ha sido señalada como un factor importante en una mayor degradación de triglicéridos en los músculos y tejido adiposo (Vallerand y Jacobs, 1990). Ambas condiciones (hipoxia y temperatura), que se encuentran presentes en la condición estudia en ambos estudios, pueden sumarse o presentar una sinergia en altura, y si la tendencia hacia valores elevados de triglicéridos plasmáticos en altura se muestra consistente, como este estudio y otros señalan, se generaría un nuevo interés epidemiológico.

En consecuencia, lo observado en nuestros estudios, permite afirmar que tanto en hipoxia hipobárica intermitente como crónica no se ha apreciado una elevación del colesterol total ni del colesterol-HDL, pero si una leve disminución del colesterol-LDL, coincidente con lo publicado por otros estudios. Sin embargo, la elevación de los triglicéridos y la asociación encontrada con la SaO_2 , permite señalar un rol de la hipoxia que hace necesario nuevos estudios tanto experimentales como epidemiológicos.

Finalmente, los resultados de esta Tesis apoyan a que, el modelo de exposición intermitente, posee ciertas características que lo hace diferente de los modelos de exposición crónica. Es así como, los valores de hematocrito y de hemoglobina, se elevan en respuesta a la hipoxia, pero adquieren una posición intermedia en valores, entre el nivel del mar y la exposición crónica, asimismo se destaca al hematocrito no solo como un predictor de cambios

adaptativos sino también de pronóstico que ha permitido generar un modelo de individuos tolerantes e intolerantes dentro de una misma especie. Además, se observa que la presión arterial no presenta niveles hipertensivos a largo plazo, pero si una mayor presión arterial el primer día de exposición, desconociéndose sus consecuencias en el riesgo cardiovascular. Por otra parte, en los sujetos crónicos jóvenes el aumento de la presión diastólica, podría representar una persistencia de la actividad simpática aun al 8° mes, más allá de lo publicado. También, la fórmula leucocitaria presenta diferentes respuestas en los expuestos intermitentemente en largo y corto plazo, con una linfocitosis en los expuestos crónicos y una relación con la hipoxia, que requiere confirmación. Por último, el perfil lipídico, tanto en expuestos intermitentes como en expuestos crónicos, muestra que no se altera el colesterol total, ni el colesterol- HDL, pero si se presenta una leve disminución el colesterol-LDL en ambos grupos y en forma notoria se destaca, la elevación de los triglicéridos, que en ausencia de correlación con el IMC, la dieta y también por la asociación encontrada con la SaO_2 , nos señalan claramente un rol de la hipoxia y un área de interés epidemiológico.

7. Conclusiones

7. Conclusiones

Como resultado de la realización de estos estudios se obtienen las siguientes conclusiones

7.1. Conclusiones respecto al Objetivo 1

1. El presente estudio, contribuye al conocimiento de la historia natural de la hipoxia hipobárica intermitente crónica, en ratas, que permitiría establecer una base o modelo de experimentación de esta condición.
2. Esta historia natural, nos muestra que en este modelo, la gran altura afecta fuertemente la supervivencia y ganancia de peso, junto a fenómenos adaptativos parecidos a los crónicamente expuestos en pulso, hematocrito y hemoglobina. Sin embargo, se logró apreciar que la intermitencia crónica, en términos de respuesta hematológica, ocupa una posición intermedia más benigna que la crónica, y tienen una fuerte influencia como predictora de respuesta patológica. Aunque estos resultados no son fácilmente extrapolables a la clínica, indican las áreas potenciales de interés.
3. Se demuestra que la mayoría de los cambios o respuestas biológicas de adaptación se inician a partir del primer mes de exposición, logrando su mayor expresión y posterior estabilización al tercer mes, haciendo innecesarios periodos mas prolongados de observación.

7.2. Conclusiones respecto al Objetivo 2

1. Este es el primer estudio epidemiológico que integra varias variables, en sujetos expuestos por razones de trabajo a intermitencia crónica, por mas de 12 años a una altura de 3550 m (mayoría > 20 años), y muestra que a pesar del tiempo transcurrido, un elevado porcentaje es afectado agudamente por la hipoxia el primer día (sin lograr una total aclimatación), pero que es compensado rápidamente al segundo día (probablemente el modelo de adaptación).
2. Los parámetros hematológicos adquieren una posición intermedia entre la exposición crónica y nivel del mar y también se observa una elevación en los valores de los triglicéridos.
3. Aunque, estos resultados pueden ser considerados como preliminares, por la ausencia de un grupo control, ellos contribuyen con información relevante y complementaria al estudio de esta condición laboral y a la construcción de la historia natural de esta condición.

7.3. Conclusiones respecto al Objetivo 3

1. Este estudio epidemiológico presenta los cambios en hematocrito, leucocitos y perfil lipídico en una población de sujetos muy jóvenes, nativos de nivel de mar, recién llegados a la altura y expuestos por 8 meses en forma crónica a 3.550 m.
2. Se aprecia una moderada elevación no patológica del hematocrito y hemoglobina, una neutropenia relativa, una linfocitosis, una disminución discreta del colesterol-LDL y un aumento de los triglicéridos. No se encuentra correlación entre la SaO_2 y la hemoglobina, como ha sido descrita previamente y se observa una asociación entre los leucocitos totales y el valor de la SaO_2 .
3. La edad de los sujetos podrían explicar por si misma algunos de los resultados, pero el hecho de ser diferentes a los del grupo comparativo de nivel de mar, nos sugiere que estos cambios pueden ser un resultado de la contribución de la hipoxia presente en esta condición y genera interés epidemiológico acerca del comportamiento del sistema inmune y los ácidos grasos en altura, también, podrían representar el proceso de aclimatación a la hipoxia crónica en este tipo de poblaciones.

8. Bibliografia

8. Bibliografía

1. Anonymous. The Lake Louise Consensus on the definition and quantification of Altitude Illness. In: Hypoxia and mountain medicine. J. Sutton, G. Coates and C. Houston, eds. Queen City Press, Burlington, VT, USA. 1992; pp. 327-330.
2. Antezana G., Barragan L., Couldert J., Cudkowicz L., Durand J., Lockhart A., Mensch-Dechene J., Paz-Zamora M., Spielvogel H., vargas E., y Zelter M. The pulmonary circulation of high altitude natives. In: High altitude Physiology and Medicine. W. Brendel y R.A. Zink eds. Springer-Verlag. New York. USA. 1982; pp. 142-149.
3. Antezana AM. Cardiovascular changes in chronic intermittent hypoxia, Health and Height. Proceedings of the 5th World Congress on Mountain Medicine and High Altitude Physiology. Universitat de Barcelona; España. 2003; pp. 151-155.
4. Baibas N., Trichopoulou A., Voridis E., and Trichopoulos D. Residence in mountainous compared with lowland areas in relation to total and coronary mortality. A study in rural Greece. *J Epidemiol Community Health*. 2005; 59: 274-8.
5. Baker HJ, Lindsey JR, and Weisbroth SH. *The Laboratory Rat*, Vol. 1–2. Academic Press, 1979; New York, USA.
6. Basu CK., Gautam RK., Sharma RP., Kumar H., Tomar OS., Sawhney RC., and Selvamurthy W. Metabolic responses during initial days of altitude acclimatization the eastern Himalayas. *In.t. J. Biometeorol*. 1996; 39:133-8.

7. Beidleman BA., Muza SR., Fulco CS., Cymerman A., Ditzler D., Stulz D., Staab JE., Skrinar GS., Lewis SF., and Sawka MN. Intermittent altitude exposures reduce acute mountain sickness at 4300 m. *Clin Sci (Lond)*. 2004; 106:321-328.
8. Beidleman BA., Muza SR., Fulco CS., Cymerman A., Staab JE., Sawka MN., Lewis SF. y Skrinar GS. White blood cell and hormonal responses to 4300 m altitude before and after intermittent altitude exposure. *Clin Sci (Lond)*. 2006; 111:163-9.
9. Bernardi L., Passino C., Spadacini G., Calciati A., Robergs R., Greene R., Martignoni E., Anand I., Appenzeller O. Cardiovascular autonomic modulation and activity of carotid baroreceptors at altitude. *Clin Sci (Lond)*. 1998; 95:565-73.
10. Bottiger LE. And Carlson LA. Relation between serum cholesterol and triglyceride concentration and haemoglobin values in non-anaemic healthy persons. *Br Med J*. 1972; 3:731-3.
11. Cabrera de León A., Gonzalez DA., Mendez LI., Aguirre-Jaime A, del Cristo Rodriguez Perez M,. Coello SD. y Trujillo IC. Leptin and altitude in the cardiovascular diseases. *Obes Res*. 2004; 12:1492-8.
12. Cáceres J., Rojas M., Cáceres L., and Ortiz J. Colesterol total y sus fracciones en adultos de 30 a 39 años, según género y sub-grupos de edad: Cusco. [in Spanish]. *Sítua*. 2004; 13:12-19.
13. Calbet JA., Radegran G., Boushel R., Sondergaard H., Saltin B. y Wagner PD. Effect of blood haemoglobin concentration on V(O₂,max) and cardiovascular function in lowlanders acclimatised to 5260 m. *J Physiol*. 2002; 545:715-28.

14. Calbet JA. Chronic hypoxia increases blood pressure and noradrenaline spillover in healthy humans. *J Physiol.* 2003; 551:379-86.
15. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA.* 2003; 289:2560-72.
16. Dhabhar FS., Miller AH., McEwen BS., and Spencer RL. Stress-induced changes in blood leukocyte distribution. Role of adrenal steroid hormones. *J Immunol.* 1996; 157:1638-44.
17. Dominguez Coello S., Cabrera De Leon A., Bosa Ojeda F., Perez Mendez LI., Diaz Gonzalez L., and Aguirre-Jaime AJ. High density lipoprotein cholesterol increases with living altitude. *Int J Epidemiol.* 2000; 29:65-70.
18. Facco M., Zilli C., Siviero M., Ermolao A., Travain G., Baesso I., Bonamico S., Cabrelle A., Zaccaria M., and Agostini C. Modulation of immune response by the acute and chronic exposure to high altitude. *Med Sci Sports Exerc.* 2005; 37:768-74.
19. Ferezou J., Richalet JP., Coste T., and Rathat C. Changes in plasma lipids and lipoprotein cholesterol during a high altitude mountaineering expedition (4800 m). *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1988; 57:740-5.
20. Garruto RM. and Dutt JS. Lack of prominent compensatory polycythemia in traditional native Andeans living at 4,200 meters. *Am J Phys Anthropol.* 1983; 61:355-66.

21. Germack R., León-Velarde F., Valdes De La Barra R., Farias J., Soto G., and Richalet JP. Effect of intermittent hypoxia on cardiovascular function, adrenoceptors and muscarinic receptors in Wistar rats. *Exp Physiol.* 2002; 87:453-60.
22. Hackett PH. and Roach RC. High-Altitude Medicine. In: Wilderness Medicine, 3rd ed. Auerbach PS ed.; Mosby, St. Louis, USA. 1995; pp. 1-37.
23. Hackett PH. Acute mountain sickness and high altitude cerebral edema: a Review for the Practitioner, Health and Height. Proceedings of the 5th World Congress on Mountain Medicine and High Altitude Physiology. Universitat de Barcelona; España, 2003; pp. 9-22.
24. Heinicke K., Prommer N., Cajigal J., Viola T., Behn C., and Schmidt W. Long-term exposure to intermittent hypoxia results in increased hemoglobin mass, reduced plasma volume, and elevated erythropoietin plasma levels in man. *Eur J Appl Physiol.* 2003; 88:535-43.
25. Heistad, D.D. and Abboud, F.M. Circulatory adjustments to hypoxia. *Circulation.* 1980; 61: 463-470.
26. Hultgren HN., Kelly J., and Miller H. Pulmonary circulation in acclimatized man at high altitude. *J Appl Physiol.* 1965; 20:233-238.
27. Hurtado A. Chronic mountain sickness. *JAMA.* 1942; 120: 1278-1282.
28. Hurtado A. Animals in high altitude: resident man. In: Hand book of physiology adaptation to the environment. Sect. 4. D.B.Dill, E.F. Adolph and C.G. Wilber, eds. American Physiological Society. 1964; Washington DC, USA; pp 843-860.

29. Jha SK., Anand AC., Sharma V., Kumar N., and Adya CM. Stroke at high altitude: Indian experience. *High Alt Med Biol.* 2002; 3:21-7.
30. Jhons C., Gavras I., Handy DE., Salomao A., and Gavras H. Model of Experimental Hypertension in Mice. *Hypertension.* 1996; 28: 1064-1069.
31. Klokke M., Kharazmi A., Galbo H., Bygbjerg I., and Pedersen BK. Influence of in vivo hypobaric hypoxia on function of lymphocytes, neutrocytes, natural killer cells, and cytokines. *J Appl Physiol.* 1993; 74:1100-6.
32. Kanstrup IL., Poulsen TD., Hansen JM., Andersen LJ., Bestle MH., Christensen NJ., Olsen NV. Blood pressure and plasma catecholamines in acute and prolonged hypoxia: effects of local hypothermia. *J Appl Physiol.* 1999; 87:2053-8.
33. Lahiri S. Role of arterial O₂ flow in peripheral chemoreceptor excitation. *Fed Proc.* 1980; 39:2648-52.
34. Leon-Velarde F, Monge CC, Vidal A, Carcagno M, Criscuolo M, Bozzini CE. Serum immunoreactive erythropoietin in high altitude natives with and without excessive erythrocytosis. *Exp Hematol.* 1991; 19:257-60.
35. León-Velarde F. and Arregui A. (1994). Desadaptacion a la Vida en las Grandes Alturas. [in Spanish]. Eds. IFEA/UPCH, 1994; Lima, Peru.
36. León-Velarde F., Soto G., Valdes de la Barra R., and Richalet JP. Time Course of Cardiovascular Responses to Intermittent Hypoxia (4.600m) In Conscious Rats. In Hypoxia: Into The Next Millennium. Edited by R. Roach and P. Hackett. *Adv. In Exp Medicine Biology.* 1999; 474:403.
37. León –Velarde F., Gamboa A., Chuquiza JA., Esteba WA., Rivera-Chira M., and Monge C. Hematological Parameters in High Altitude Residents

- Living at 4,355, 4,660, 5,500 Meters Above sea Level. *High Alt Med Biol.* 2000; 1:97-104.
38. León-Velarde F., Maggiorini M., Reeves JT., Aldashev A., Asmus I., Bernardi L., Ge RL., Hackett P., Kobayashi T., Moore LG., Penaloza D., Richalet JP., Roach R., Wu T., Vargas E., Zubieta-Castillo G., and Zubieta-Calleja G. Consensus statement on chronic and subacute high altitude diseases. *High Alt Med Biol.* 2005; 6:147-57.
 39. Li J., Bosch-Marce M., Nanayakkara A., Savransky V., Fried SK., Semenza GL., and Polotsky VY. Altered metabolic responses to intermittent hypoxia in mice with partial deficiency of hypoxia-inducible factor-1alpha. *Physiol Genomics.* 2006; 25:450-7.
 40. Marticorena E., Ruiz L., Severino J., Galvez J., and Penaloza D. Systemic blood pressure in white men born at sea level: changes after long residence at high altitudes. *Am J Cardiol.* 1969; 3:364-8.
 41. McGuire M., and Bradford A. Chronic intermittent hypoxia increases haematocrit and causes right ventricular hypertrophy in the rat. *Respir. Physiol.* 1999; 117:53-8.
 42. Ministerio de Salud de Chile (MINSAL). Encuesta Calidad de Vida [Health National Survey. [in Spanish]. MINSAL Eds. 2003; Santiago, Chile.
 43. Monge M., Encinas E., Heraud C. y Hurtado A. La enfermedad de los Andes (síndromes eritremicos). Imprenta América latina, 1928; Lima Perú.
 44. Monge CC. and Whittembury J. Chronic mountain sickness. *Johns Hopkins Med J.* 1976; 139: 87-9.

45. Monge C. and León Velarde F. El reto fisiológico de vivir en los Andes [in Spanish]. Universidad Peruana Cayetano Heredia Press. 2003; Lima, Perú.
46. Morel OE., Aubert R., Richalet JP., and Chapelot D. Simulated high altitude selectively decreases protein intake and lean mass gain in rats. *Physiol. Behav.* 2005; 86:145–153.
47. Murdoch DR. Symptoms of infection and altitude illness among hikers in the Mount Everest region of Nepal. *Aviat Space Environ Med.* 1995; 66:148-51.
48. Murray RK., Granner DK., Mayes PA., and Rodwell VW. Oxidation of Fatty Acids: Ketogenesis. In: Harper's Illustrated Biochemistry (26th Edition). Murray RK.; Granner DK.; Mayes P A., and Rodwell VW., eds. McGraw-Hill, NY,USA. 2003; pp. 180 -190.
49. Myles WS. and Ducker AJ. The excretion of catecholamines in rats during acute and chronic exposure to altitude. *Can J Physiol Pharmacol.* 1971; 49:721-6.
50. Neubauer JA. Invited review: Physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia. *J Appl Physiol.* 2001; 90:1593-9.
51. Olivera AA. and Diaz N. Niveles sericos de lipidos, colesterol y proteinas en residentes de costa y altura. (In Spanish) *Bol Soc Quim Perú.* 1971; 37:182-193.
52. Peñaloza D., Sime F., Banchemo N., Gamboa R., Cruz J., and Marticorena E. Pulmonary hypertension in healthy men born and living at high altitudes. *Am J Cardiol.* 1963; 11:150–157.

53. Penalzoa D. and Sime F. Chronic cor pulmonale due to loss of altitude acclimatization (chronic mountain sickness). *Am J Med.* 1971; 50: 728-43.
54. Powell FL. and Garcia N. Physiological effects of intermittent hypoxia. *High Alt Med Biol.* 2000; 1:125-36.
55. Prabhakar NR. and Kline DD. Ventilatory changes during intermittent hypoxia: importance of pattern and duration. *High Alt Med Biol.* 2002; 3:195-204.
56. Ramos J., Anduaga G., Reynafarje C. and Lopez F. Variaciones leucocitarias en sujetos nativos de las grandes alturas que descienden a nivel del mar. (In Spanish). *Arch Inst Biol Andina* Lima. 1971; 4:38-43
57. Reeves JT. and Weil JV. Chronic mountain sickness. A view from the crow's nest. *Adv Exp Med Biol.* 2001; 502:419-37.
58. Reeves J., and Leon –Velarde F. Chronic mountain sickness: recent studies of the relationship between hemoglobin concentration and oxygen transport. *High Alt Med Biol.* 2004; 2:147-.56.
59. Richalet JP., Rutgers V., Bouchet P., Rymer JC., Keromes A., Duval-Arnould G., and Rathat C. Diurnal variations of acute mountain sickness, colour vision, and plasma cortisol and ACTH at high altitude. *Aviat Space Environ Med.* 1989; 60:105-11.
60. Richalet, J-P. The heart and adrenergic system in hypoxia. In *hypoxia: The Adaptations*. Sutton, J.R., Coates, G., J.E. & Remmers, J.E., pp. 231-240. B.C. Decker Inc.1990; Toronto, Philadelphia, PA., USA.

61. Richalet JP., Kacimi R. and Antezana AM. The control of cardiac chronotropic function in hypobaric hypoxia. *Int J. Sports Med.* 1992; 13: 22-4.
62. Richalet JP., Donoso MV., Jimenez D., Antezana AM., Hudson C., Cortes G., Osorio J., and Leon A. Chilean miners commuting from sea level to 4500 m: a prospective study. *High Alt Med Biol.* 2002; 3:159-66.
63. Rivera M., Leon-Velarde F., Huicho L. and Monge C. Bone marrow oxygen consumption and erythropoiesis in chronically hypoxic rats. *Life Science.* 1997; 55:1027-32.
64. Rostrup M. Catecholamines, hypoxia and high altitude. *Acta Physiol. Scand.* 1998; 162:389–399.
65. Rotta A., Morales S.G. and Battilana G. Valores de colesterol sanguíneo y de presión arterial en sujetos sanos, de nivel del mar y de la altura. Reporte preliminar. (In Spanish). *Rev Peru Cardiol.* 1965; 12: 9-15.
66. Ruiz-Arguelles GJ., Sanchez-Medal L., Loria A., Piedras J., and Cordova MS. Red cell indices in normal adults residing at altitude from sea level to 2670 meters. *Am. J. Hematol.* 1980; 8:265-71.
67. Runo JR. and Loyd JE. Primary pulmonary hypertension. *Lancet.* 2003; 361:1533-44.
68. Sarybaev AS., Palasiewicz G., Usupbaeva DA., Plywaczewski R., Maripov AM., Sydykov AS., Mirrakhimov MM., Le Roux H., Kadyrov T., and Zielinski J. Effects of intermittent exposure to high altitude on pulmonary hemodynamics: a prospective study. *High Alt Med Biol.* 2003; 4:455-63.

69. Schmidt W. Effects of intermittent exposure to high altitude on blood volume and erythropoietic activity. *High Alt Med Biol.* 2002; 3:167-76.
70. Sharma S. Clinical, biochemical, electrocardiographic and noninvasive hemodynamic assessment of cardiovascular status in natives at high to extreme altitudes (3000m-5500m) of the Himalayan region. *Indian Heart J.* 1990; 42:375-9.
71. Siqués P. and Brito J. Trabajo a gran altura intermitente: Nueva situación epidemiológica. [In Spanish]. Universidad Arturo Prat eds. 2001; Iquique, Chile.
72. Siques P., Brito J., Leon-Velarde F., Barrios L., Cruz JJ., Lopez V., and Herruzo R. Time course of cardiovascular and hematological responses in rats exposed to chronic intermittent hypobaric hypoxia (4600 m). *High Alt Med Biol.* 2006; 7:72-80.
73. Temte JL. Elevation of serum cholesterol at high altitude and its relationship to hematocrit. *Wilderness Environ Med.* 1996; 7:216-24.
74. Thake CD., Mian T., Garnham AW., and Mian R. Leukocyte counts and neutrophil activity during 4 h of hypocapnic hypoxia equivalent to 4000 m. *Aviat Space Environ Med.* 2004; 75:811-7.
75. Tin'kov AN. and Aksenov VA. Effects of intermittent hypobaric hypoxia on blood lipid concentrations in male coronary heart disease patients. *High Alt Med Biol.* 2002; 3:277-82.
76. Vallerand AL. and Jacobs I. Influence of cold exposure on plasma triglyceride clearance in humans. *Metabolism.* 1990; 39:1211-8.

77. Vasquez R. and Villena M. Normal hematological values for healthy persons living at 4000 meters in Bolivia. *High Alt Med Biol.* 2001; 2:361-7.
78. Villafuerte FC., Cardenas R., and Monge-CC. Optimal hemoglobin concentration and high altitude: a theoretical approach for Andean men at rest. *J Appl Physiol.* 2003; 96:1581-8.
79. Weil JV. Sleep at high altitude. *High Alt Med Biol.* 2004; 5:180-9.
80. West JB. Intermittent exposure to high altitude. *High Alt Med Biol.* 2002; 3:141-3.
81. Wilson PW., D'Agostino RB., Levy D., Belanger AM., Silbershatz H., and Kannel WB. (1998). Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation.* 1998; 97:1837-47.
82. Winslow RM y Monge C. Hypoxia , Polycythemia and Chronic mountain sickness. Johns Hopkins ed. 1987; Baltimore, USA.
83. Winslow RM., Chapman KW., Gibson CC., Samaja M., Monge CC., Goldwasser E., Sherpa M., Blume FD., and Santolaya R. Different hematologic responses to hypoxia in Sherpas and Quechua Indians. *J Appl Physiol.* 1989; 66:1561-9.
84. Wood S., Norboo T., Lilly M., Yoneda K. and Eldridge M. Cardiopulmonary function in high altitude resident of Ladakh. *High Alt Med Biol.* 2003; 4:445-54.

9. Resumen

9. Resumen

El resumen se ha estructurado en los diferentes apartados del trabajo que corresponden a cada uno de sus objetivos.

9.1. Resumen del Objetivo 1

Historia Natural de la Respuesta Cardiovascular y Hematológica en Ratas Expuestas a Hipoxia Hipobárica Intermitente Crónica en Gran Altura.

Objetivo: Evaluar los efectos cardiovasculares y hematológicos en ratas machos Wistar expuestas a hipoxia hipobárica intermitente crónica a gran altura (4600 m).

Materiales y Métodos: Se utilizó una cámara hipobárica y los grupos fueron: ICH4X4 (4 días hipoxia, 4 normoxia) n= 50, ICH2X2 (2 días hipoxia, 2 días normoxia) n= 50, NX (normoxia) n= 30, CH (hipoxia crónica) n= 28. Variables principales: Supervivencia, Peso, Frecuencia Cardíaca, Presión Arterial Sistólica, Hematocrito, Hemoglobina y Leucocitos Totales. Análisis de datos: Promedios, IC, para diferencias entre grupos análisis de varianza (ANOVA) y para diferencias en el tiempo mediante ANOVA de medidas repetidas, análisis de supervivencia con prueba de Kaplan-Meier con sus Log-Rank, análisis bi y multi variante con regresión de Cox.

Resultados: Se encontró una elevada mortalidad inicial en el primer mes, con estabilización posterior, asociada a pesos bajos y a hematocrito elevado. La intermitencia produjo un aumento de las concentraciones de hematocrito y hemoglobina como se ha descrito, en otros modelos hipóxicos comparados con normoxia, pero con menores valores que la hipoxia crónica ($p < 0.001$). La presión sistólica aumenta en los grupos intermitentes (171 ± 3 y 174 ± 2 mm Hg, respectivamente) comparados con el nivel basal (163 ± 3 ; 163 ± 3 mm Hg), sin embargo no se observa este aumento en los crónicos. El pulso presenta una disminución igual y sostenida en el tiempo en todos los grupos expuestos (343 ± 14 pulsaciones/min).

Conclusiones: La exposición a hipoxia intermitente crónica produce una moderada policetemia, encontrándose a los parámetros hematológicos en una posición intermedia, respecto al grupo control y a los expuestos crónicos. También se observa una disminución en el pulso y la mortalidad encontrada presentó una asociación con el peso y con valores mas elevados de hematocrito. La mayoría de los cambios se inician a partir del primer mes, logrando su mayor expresión y estabilización al tercer mes, haciendo innecesarios periodos mas prolongados de observación.

9.2. Resumen del Objetivo 2

Exposición a Hipoxia Intermitente Crónica en Gran Altura durante más de 12 años: Evaluación de los Efectos Hematológicos y Cardiovasculares.

Objetivo: Determinar el estado de salud de sujetos que están expuestos a hipoxia hipobárica intermitente en forma crónica en un sistema de turnos entre altura (3550 m) y nivel de mar por un periodo superior a 12 años.

Materiales y Métodos: En un estudio de diseño transversal, se estudiaron, 50 sujetos del Ejército de Chile (edad 48.7 ± 2.0 años), que trabajan en la localidad de Putre a 3550 m por cuatro días y descansan a nivel de mar en Arica, Chile. Se midieron en altura (día 1°, 2° y 4°) y a nivel de mar (día 1°, 2° y 3°): presión arterial, frecuencia cardíaca, SaO_2 y sintomatología de altura (puntuación de EAM y estado de sueño). El día 1° de nivel de mar se obtuvieron los parámetros hematológicos y de perfil lipídico. Análisis de datos: Promedios, DE e IC, para diferencias entre periodos, se utilizó ANOVA de medidas repetidas; para las diferencias entre proporciones prueba de Chi-cuadrado de McNemar, correlaciones con pruebas de Pearson y un análisis bi y multi variante con regresión logística.

Resultados: Los resultados muestran signos de exposición aguda a la hipoxia (taquicardia, presión arterial elevada y baja SaO_2), presencia de EAM y dificultades para dormir el 1° día, que rápidamente disminuyen a partir del 2° día. El hematocrito (45 ± 2.7) y la hemoglobina (15 ± 1.0) están elevados pero en

valores menores que los de residentes crónicos. Se encuentra una proporción importante de sujetos con niveles de triglicéridos elevados (238 ± 162).

Conclusiones: Estos resultados considerados preliminares en hipoxia crónica intermitente, muestran que pese al largo periodo de tiempo que llevan estos sujetos expuestos, la mayoría de ellos aún presentan síntomas de altura en forma aguda pero que se recuperan rápidamente. Los hallazgos en los triglicéridos son materia de interés epidemiológico

9.3. Resumen del Objetivo 3

Cambios Hematológicos y de Perfil Lipídico en Nativos de Nivel de Mar Expuestos por Primera Vez a 3550 m de Altura por 8 Meses

Objetivo: Determinar los efectos en los parámetros hematológicos y de perfil lipídico en un grupo de sujetos jóvenes, recién llegados a la altura después de haber sido expuestos crónicamente por un periodo de 8 meses a 3550 m.

Materiales y Métodos: Se estudiaron, reclutas del Ejército de Chile ($n=50$) elegidos al azar, con una edad de 17.8 ± 0.7 y sin sobrepeso ($IMC 22.9 \pm 0.5$), que permanecieron a 3550 m en la localidad de Putre, Chile, por 8 meses. Las variables estudiadas en altura el día 1 y a los 8 meses fueron: hematocrito (Hct; %), Hemoglobina (Hb, g/dl), SaO_2 , leucocitos totales y su fórmula leucocitaria (mm^3 ; %), y perfil lipídico (mg/dl). Las mismas variables fueron medidas en un grupo comparativo (GC) de nivel de mar. Análisis de datos: Promedios, DE e IC, para diferencias entre los periodos se utilizó la prueba T de muestras relacionadas, se establecieron correlaciones de Pearson entre las variables y para comparar con el GC se utilizaron pruebas T de muestras independientes. Se realizó, un análisis bi y multi variante con regresión lineal y logística.

Resultados: En altura, se encontró una elevación del Hct (44.6 ± 0.4 ; 51.2 ± 0.4) y de la Hb (15.5 ± 0.1 ; 17.3 ± 0.1 ; $p < 0.001$), ningún sujeto tenía valores de Hb ≥ 21 g/dl. No se encontró una correlación entre Hb y SaO_2 , $r 0.11$ $p > 0.05$. El recuento total de leucocitos no muestra cambios en los dos periodos

estudiados (6037 ± 74 ; 6002 ± 43), pero si se observa una neutropenia relativa (55.2 ± 1.5 ; 50.6 ± 1.3) y una linfocitosis (34.2 ± 1 ; 42.4 ± 1 , $p < 0.001$). Estos resultados también se encuentran cuando se compararan con el CG de nivel de mar. Se encuentra una correlación inversa entre SaO_2 y leucocitos totales en el mes 8th (r 0.46; r^2 0.204), sugiriendo una probable representación de efectos de la hipoxia. El colesterol total no muestra cambios (153.8 ± 4.5 ; 157.3 ± 5.1 ; p NS), pero si se observa una disminución del colesterol-LDL (88.4 ± 3.3 ; 81.0 ± 3.9 ; $p < 0.05$), y un aumento de los triglicéridos (121.6 ± 10.9 ; 178.8 ± 11.7 ; $p < 0.001$).

Conclusiones: Los cambios observados en los leucocitos y en los triglicéridos en los dos periodos de altura estudiados y sus diferencias con el grupo de nivel de mar sugieren un papel importante de la hipoxia, como factor contribuyente de estos efectos y crean algunas áreas epidemiológicas de interés en lo que respecta al sistema inmune y ácidos grasos en estas poblaciones de altura.

10. Índice de Índice de Tablas y Figuras

10. Índice de Índice de Tablas y Figuras

Tablas	Pagina
Tabla 1.- Características generales del grupo estudiado: Edad (años). Índice de masa corporal (IMC, Kg/m ²), años de altura y condición de fumador (Si/No). Los valores son promedios \pm DE; proporciones (%).	40
Tabla 2.- Presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD), frecuencia cardiaca (FC) y saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO ₂), en nivel de mar (nm) y al día (d) 1 y 4 en altura. Los valores son promedios \pm error estándar (ES) y p-valor (<i>p</i>).	42
Tabla 3.- Medidas hematológicas y bioquímicas: Hematocrito (Hct), concentración de hemoglobina (Hb), leucocitos totales, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, triglicéridos, razón de colesterol total/colesterol-HDL; los valores son promedios \pm DE.	44
Tabla 4.- Variables en el modelo final de regresión logística; variable dependiente triglicéridos (punto de corte $\geq <150$ mg/dl); coeficiente de regresión (<i>B</i>), error típico de <i>B</i> (ET), OR, intervalos de confianza para OR al 95% y p-valor (<i>p</i>).	45
Tabla 5.- Leucocitos totales (mm ³) y formula leucocitaria (%); Día 1 y Mes 8 th en altura. Los valores son promedios (\bar{X}) \pm error estándar (EE) y <i>p</i> valor.	59
Tabla 6.- Perfil lipídico el Día 1 y Mes 8 th en altura, colesterol total (mg/dl), colesterol-HDL (mg/dL), colesterol-LDL (mg/dl) y triglicéridos (mg/dl). Los valores son promedios (\bar{X}), \pm error estándar (EE) y <i>p</i> valor.	61

Tabla 7.- Valores de grupo comparativo a nivel de mar: Leucocitos **63**
totales (mm^3) y formula leucocitaria (%); y perfil lipídico: Colesterol Total
(mg/dl), colesterol-HDL (mg/dl), colesterol-LDL (mg/dl) y triglicéridos
(mg/dl). Los valores son promedios (\bar{X}) \pm error estándar (EE).

Tabla 8.- Revisión de valores de perfil lipídico de acuerdo a localización **70**
geográfica, muestra, edad, tipo de exposición, altura, referencia y
variables (Colesterol Total (mg/dl), colesterol-HDL (mg/dl), colesterol-
LDL (mg/dl) y triglicéridos (mg/dl).

Figuras	Pagina
Fig. 1.- Curva de Supervivencia de Kaplan-Meier del total del protocolo.	21
Fig. 2.- Promedio mensual de peso, total del protocolo. Promedios \pm Intervalos de Confianza.	22
Fig. 3.- Promedio mensual de: a) Presión Sistólica (mm/Hg.) b) Pulso por minuto (b/min.), total del protocolo; Promedios \pm Intervalos de Confianza.	23
Fig. 4.- Promedio mensual de: a) Hematocrito (%) b) Hemoglobina (grs/dl.), total del protocolo; Promedios \pm Intervalos de Confianza.	25
Fig. 5.- Promedio mensual de leucocitos, total del protocolo; Promedios \pm Intervalos de Confianza.	26
Fig. 6.- Comparación de proporciones (%) de cefalea y dificultad para dormir en altura y a nivel de mar (nm) en día 1°, 2° y último día (día 4° en altura y día 3° a nm).	43
Fig. 7.- Relación de leucocitos totales (mm^3) con saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO_2) al 8° mes de altura de 3550 m, Putre, Chile $p < 0.01$.	60
Fig. 8.- Curvas comparativas de distribución de saturación de oxígeno de la hemoglobina (SaO_2), presente estudio (Putre, 3550 m, mes 8°) y Cerro de Pasco, Perú (4338 m; León-Velarde et al., 1991).	64

11. Apéndice

Publicaciones realizadas a partir de los resultados

Time Course of Cardiovascular and Hematological Responses in Rats Exposed to Chronic Intermittent Hypobaric Hypoxia (4600 m)

PATRICIA SIQUÉS,^{1,2} JULIO BRITO,^{1,2} FABIOLA LEÓN-VELARDE,³ LUIS BARRIOS,¹
JUAN JOSÉ DE LA CRUZ,⁴ VASTHI LÓPEZ,^{1,2} and RAFAEL HERRUZO⁴

ABSTRACT

Siqués, Patricia, Julio Brito, Fabiola León-Velarde, Luis Barrios, Juan José De La Cruz, Vasthi López, and Rafael Herruzo. Time course of cardiovascular and hematological responses in rats exposed to chronic intermittent hypobaric hypoxia (4600 m). *High Alt. Med. & Biol.* 7:72–80, 2006.—The aim of this study was to evaluate the effects of two periods of intermittent exposure to hypoxia (428 torr) in rats over 12 months. The conditions of CIH4×4 (4 days in hypoxia, 4 days in normoxia, $n = 50$) and CIH2×2 (2 days in hypoxia, 2 days in normoxia, $n = 50$) were selected for simulating in this animal model the chronic-intermittent exposure to high altitudes experienced by Andean miners. We assessed mortality, weight, hematological parameters, and time course of resting heart rate and systolic blood pressure. In general, mortality increased during the first month, with a tendency to stabilize during exposure; it was associated with lower weights and with higher hematocrit levels, making these possible predictor factors. Intermittence produced an increase in hematocrit and hemoglobin concentrations as previously seen in most hypoxic models, compared with normoxia (NX, $n = 30$), but attained lower levels compared with chronic hypoxia (CH, $n = 28$). CIH4×4 and CIH2×2 had similar sustained elevations of systolic blood pressure (171 ± 3 and 174 ± 2 mmHg, respectively) versus the basal level (163 ± 3 ; 163 ± 3 mmHg), whereas CH did not. Heart rate suffered an equally sustained decrease in all exposed groups (343 ± 14 beats/min). Exposure to chronic-intermittent hypoxia led to a mild polycythemia and to a decrease in heart rate. The effects of hypoxia were already evident during the first month of exposure and attained a more pronounced expression and stabilization during the third month.

Key Words: hypoxia; intermittent hypoxia; hematocrit; hemoglobin; blood pressure; heart rate; acclimatization

INTRODUCTION

THE MINING INDUSTRY IN CHILE has developed recently with the exploitation of mines located at 4000 m above sea level. This has in-

volved recruitment at sea level of skilled personnel who have to work at high altitudes for some days and rest at sea level, undergoing a shift commuting system regularly. This form of labor involves a large work force and thus has

¹Instituto de Estudios de Salud, Universidad Arturo Prat, Chile.

²Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile.

³Departamento de Ciencias Biológicas y Fisiológicas/ILA, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Peru.

⁴Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad Autónoma de Madrid, Spain.

a significant economic and social impact. These relatively new conditions (exposure of humans to work at high altitudes intermittently for long periods) represent a working and health challenge that has not been explored well compared with chronic and acute exposure. Because these conditions were first described in the context of commuting shifts of 7 days in northern Chile, they have been termed the "Chilean miners model of chronically intermittent exposure to altitude" (Richalet et al., 2002).

It is well known that exposure to high altitudes (hypobaric hypoxia) evokes different cardiovascular responses, depending on whether the exposure is acute or chronic. In acute exposure, increases in the blood pressure and heart rate are observed (Hackett, 2003), whereas in chronic exposure it has been observed that the blood pressure is not increased and that natives present a lesser chronic hypertension (Monge and León-Velarde, 2003; Wood et al., 2003). Studies in humans after 2 yr of intermittent exposure (Richalet et al., 2002) showed no changes in blood pressure, even though it is slightly higher than in groups at sea level and the heart rate tends to decrease. Regarding the hematological changes under chronic exposure, the main response in both humans and animals is an increase in the levels of hematocrit and hemoglobin (León-Velarde et al., 2000; Monge and León-Velarde, 2003), overproduction of which may cause pathological conditions in the long run.

Faced with a national priority health problem regarding which the information available worldwide was scarce and whose natural course was unknown, the Centro de Estudios de Altura de la Universidad Arturo Prat launched a program to design an animal model simulating the exposure pattern of mine workers and to carry out studies that would be impossible to carry out on human subjects. With this aim, a study was conducted on rats undergoing a commuting shift modality throughout a long period (1 yr) to compare their cardiovascular and hematological parameters with those of a group exposed to chronic conditions and a control group at sea level. This period is equivalent to more than one-third of

the Wistar rat's life-span (average 30 months; Baker et al., 1979).

MATERIALS AND METHODS

Groups under study

A total of 158 adult (3-month-old) male Wistar rats were studied. They were randomly assigned in four groups:

1. CIH4×4: chronic intermittent hypoxia, 4 days in hypobaric hypoxia and 4 days in normobaric normoxia, $n = 50$
2. CIH2×2: chronic intermittent hypoxia, 2 days in hypobaric hypoxia and 2 days in normobaric normoxia, $n = 50$
3. NX: normoxic, control group, $n = 30$
4. CH: permanent chronic hypoxia, $n = 28$

To avoid secondary changes related to hormonal influences and to maintain a similarity to the Chilean model, where the miner population is predominantly male, only male and adult rats were included.

The hypobaria was simulated in a hypobaric chamber at 428 torr, equivalent to an altitude of 4600 m above sea level, that maintained an internal flow of 3.14 L/min of room air (0.9 L/min of air per rat). The control group was placed in the same room ($22 \pm 2^\circ\text{C}$; 12-h light-dark cycle) under conditions comparable with those of the hypoxic groups. Four animals were maintained in each cage, with food made available to them (10 g/day of pellets per rat); the leftover food was weighed. To ensure adequate airflow for the chamber dimensions, half of the rats went into the chamber in different periods under the same parameters.

The different groups were exposed to their respective conditions over a 12-month period, and the following were measured monthly: weight (W), systolic blood pressure (BP, mmHg), and heart rate (HR, beats/min, right after descending). Hematocrit (Ht, %) and hemoglobin (Hb, g/dL) levels and leukocyte count were measured every 2 months. The weight was measured using an Acculab V-1200 electronic balance, 3 h after chamber descending. For measurements of blood pressure and heart rate, an inflatable tail-cuff and a pressure

sensor (RTBP1003-220, Kent Scientific, Torrington, CT) were used; this method is validated elsewhere (Jhons et al., 1996). The signal was sent through a preamplifier to a Workbench data-acquisition system, and after six consecutive measurements, the average value was registered. On the days of measurement, the animals were acclimated to a movement-limiting Plexiglas chamber for 10 to 20 min. Data were collected and analyzed using the RTBP-001-DS worksheet (Kent Scientific). A blood sample taken from the tail was used for the hematological smear and measurements. A microcentrifuge was used for the hematocrit level, and the hemoglobin level was measured using a Coulter Electronics Counter. The leukocyte counts were obtained using a Bauer chamber.

The design of this protocol and experiment model had the approval of the Ethics Committee of Universidad Arturo Prat for the study of animals.

Data analysis

The results were entered into a database and analyzed using SPSS 12.0. Means, standard deviations, and confidence intervals were calculated for each parameter. The normality was established using the Kolmogorov-Smirnov test.

Statistical analysis of the difference across all testing conditions was established using analysis of variance (ANOVA) of one factor and post hoc tests. Also, for differences in time, an ANOVA for repeated measures was performed. For mortality events in time, a survival analysis was carried out using the Kaplan-Meier test, and its statistical significance was determined through the log-rank. To observe associations and possible confusion factors, a bi- and multi-variable analysis was carried out using Cox regression. The hazard rate was also determined.

Results were considered significant when the p value was less than 0.05.

RESULTS

Survival decreased initially during month 1 in all groups exposed, compared with NX ($p < 0.001$), followed by a stabilization over time. Although the intermittently exposed groups were seen to have slightly better survival and also a different time of occurrence of half of the events (death) relative to the chronically exposed groups, the differences are not significant (Fig. 1).

No weight gain was observed in any group except the control group (NX) ($p < 0.001$), even

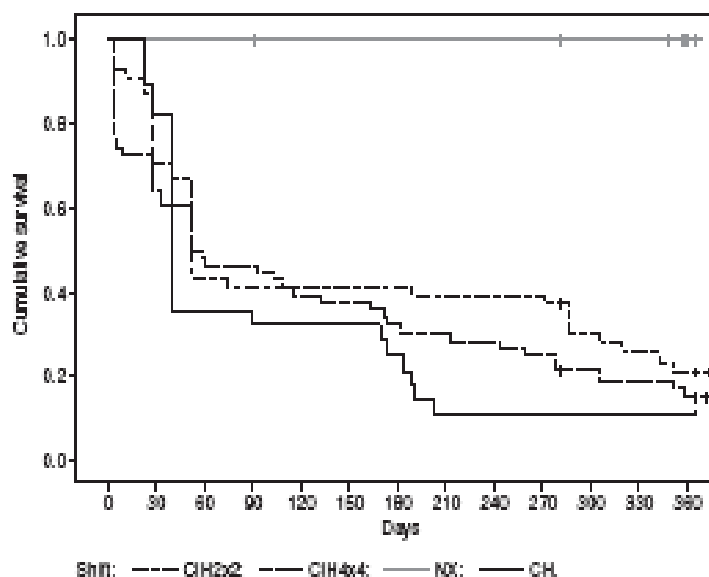


FIG. 1. Survival curve of all groups studied using Kaplan-Meier survival test.

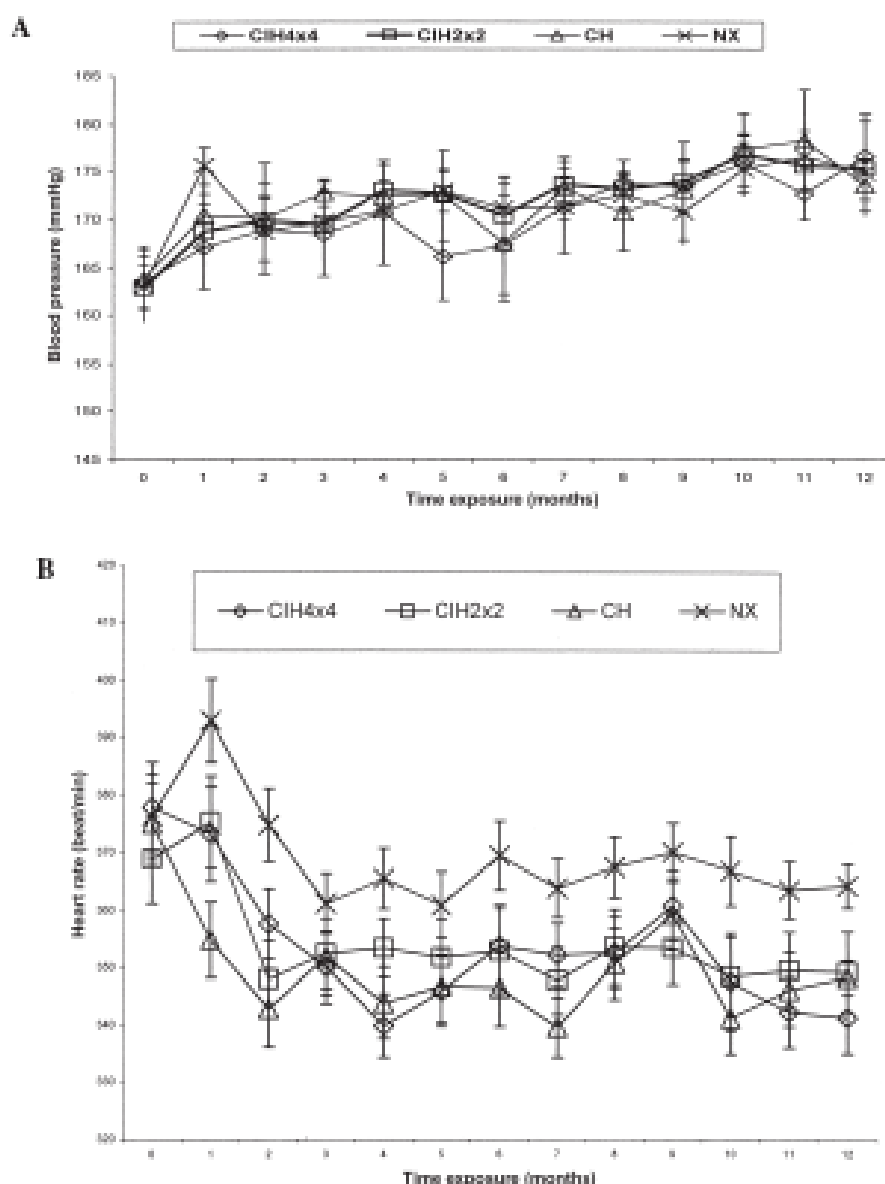


FIG. 3. Comparative (A) systolic pressure levels (mm Hg) and (B) comparative heart rate (beats/min) in the four groups studied during 12 months of exposure. Values are means \pm confidence intervals.

(Fig. 5). Also, no association with mortality was found ($p = ns$).

DISCUSSION

This is the first long-term (12 months of exposure) study on the time course of some phys-

iological variables aimed at determining a pattern and some prognostic parameters of damage through a comparison of two different high altitude intermittent shifts (a short-term one and a long-term one) undergoing chronic exposure and sea-level living. This is an attempt to obtain an animal research model that could be useful in obtaining a better understanding

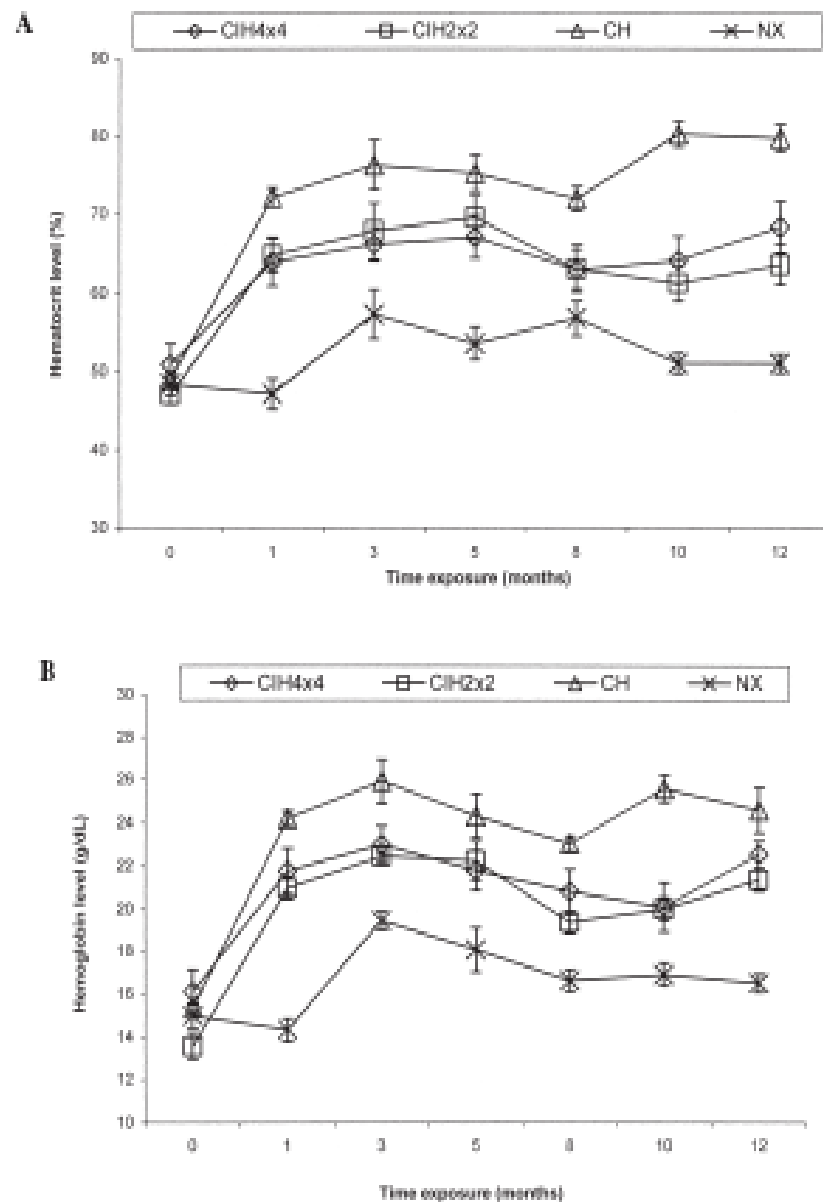


FIG. 4. Comparative (A) hematocrit (%) and (B) hemoglobin (g/dL) levels in the four groups studied during 12 months of exposure. Values are means \pm confidence intervals.

of intermittent exposure to high altitudes in humans.

Our results show that exposure to high altitudes has common and specific responses according to the time and shift, some of them already known. The other responses highlight the fact that chronic intermittent hypoxia (CIH) at high altitudes is certainly a specific biologi-

cal condition. Mortality was greatly increased with altitude, and there was a remarkable impact on feeding and weight gain. Unexpectedly, there were no significant changes in blood pressure in the long run, whereas the heart rate decreased over time, as expected. In addition, the hematocrit and hemoglobin levels rose up to intermediate values in all intermittent

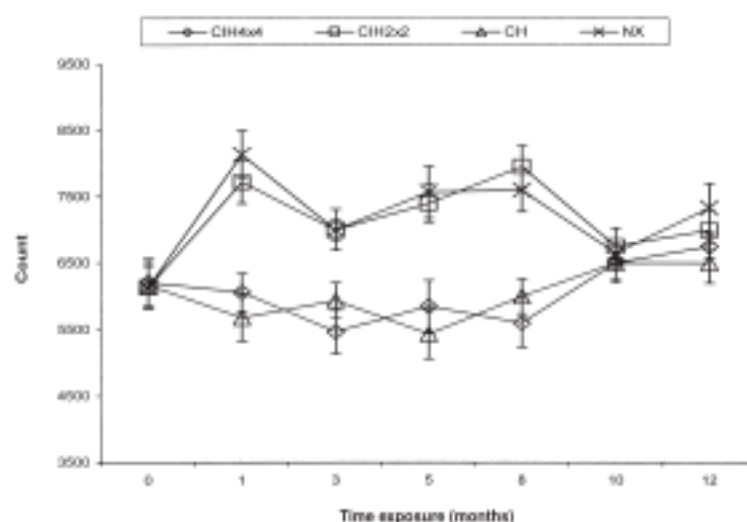


FIG. 5. Comparative leukocyte count in the four groups studied during 12 months of exposure. Values are means \pm confidence intervals.

groups, but it is worth noting that the increase appeared to be a prognostic factor related to mortality.

Although not many mortality or survival studies had been carried out previously, in this experiment a high mortality rate was clearly found for all types of exposure. In this sense, survival would represent a measure of tolerance with two stages: the first exposure, which probably involves the "natural intolerants," is followed by a second stage involving those that have a better tolerance or adaptability to altitude. Moreover, the survival in intermittent groups after the acute phase was always higher than for those under chronic exposure, but the difference was not statistically significant.

Another indirect measure of the adaptation or altitude effect is the diminished weight gain and likely hypophagia. These parameters were substantial and equally altered in all the exposed rats. Anorexia and other undefined mechanisms, such as the effect of hypoxia on leptin, could be playing an important role. In fact, a high altitude leads to a reduced preference for protein, impairing fat-free mass gain (Morel et al., 2005). Germack et al. (2002) described a diminished weight gain as well, but McGuire and Bradford (1999) did not find differences in weight gain with hypoxia obtained

through hypercapnia and a less intense exposure regime than in our model. Regarding our above results, a compensation or adaptation is not achieved, and weight could also be considered as a prognostic factor.

Blood pressure is an important parameter to assess under conditions of hypoxia because different responses have been described according to the type of exposure. Given our present results, we were unable to establish BP as a valuable indicator of the altitude effect in rats.

In intermittence, especially in humans, BP increases slightly at the beginning and then decreases, attaining base values under long-term exposure (Richalet et al., 2002; Antezana, 2003), but in rats it has been found to rise (Germack et al., 2002). In the case of acute exposure, an increase in systolic pressure has been observed, followed by a tendency to decrease, but the diastolic pressure remains high (Heistad and Abboud, 1980; Bana et al., 1996). In the case of natives or people who live for long periods at high altitudes, a lower systemic pressure has been described (Calbet, 2003; Monge and León-Velarde, 2003). In this study, BP was equally affected regardless of exposure, with a tendency to be higher at the end of the study period, presumably owing to the aging process, which was present in this model. The BP behavior in the

CH resembles more closely what is reported in the literature. There is general agreement that plasma or urinary norepinephrine (NE) is elevated in subjects staying for more than 1 week at high altitudes (Rostrup, 1998), and these findings are compatible with both increased sympathetic activity and increased systemic pressure. The excretion of NE in rats during chronic exposure to 380 torr for 5 weeks increased during the initial period at a high altitude, but the level declined as the exposure continued (Myles and Ducker, 1971), being independent of the NE plasma concentration. Thus, the fact that in chronic hypoxia the mean arterial pressure can be identical to that of normoxia (110 to 125 mmHg) is not surprising.

The decreased heart rate, which has been described as adaptive in humans through a downregulation mechanism (Richalet, 1990; Richalet et al., 1992, 2002; León-Velarde et al., 1999; Antezana, 2003; Monge and León-Velarde, 2003), displays a rather delayed decrease in our intermittent shifts, but finally displays a behavior similar to that for chronic exposure in the long run. The decreasing cardiac frequency with intermittence takes a longer time to develop completely, but it is a common pattern for all the exposed groups. Despite this delay, an overturn of the expected tachycardia during the first month is seen. No relation or association between heart rate, BP, and mortality was found.

The hematocrit and hemoglobin level behaviors are not different from what have been reported with chronic hypoxia (León-Velarde et al., 2000; Monge and León-Velarde, 2003; Reeves and León-Velarde, 2004), which show a progressive increase with age and exposure. In addition, the correlation found between the hematocrit and hemoglobin levels reflected a real increase and not a mere change in plasma volume or cellular size. These results allow us to establish that the hematological response to intermittence is less intense than with the chronic situation, with no difference between short and long shifts and reaching an intermediate position. The increase is initiated during month 1 and reached its maximum in month 3. This lower-intensity response must be taken into account when trying to establish a less harmful duration of exposure, knowing the

critical role that the hematocrit level has in the development of pathological changes.

On the other hand, our findings of a strong association with mortality support the hematocrit as a clearly prognostic and predictive factor in intermittence. The published literature on humans (Richalet et al., 2002) and rats (Germack et al., 2002) is not only in accordance with our findings, but also reinforces the idea of using the hematocrit level as a tracer of adaptive changes and prognosis (Ruiz-Arguelles et al., 1980; Rivera et al., 1997; León-Velarde et al., 2000; Vázquez and Villena, 2001; Calbet et al., 2002; Germack et al., 2002; Monge and León-Velarde, 2003).

The leukocyte count, a variable that has not been thoroughly investigated so far, shows two different responses and two groups. Whereas groups CIH4×4 and CH had increased counts, groups CIH2×2 and NX had lower counts. Whether this is a reflex of a secondary effect of hypoxia at the bone marrow level or a hint to consider the leukocyte count as another parameter with high altitudes is a matter to be determined in further studies.

CONCLUSION

This study contributes to the knowledge of the natural course of some parameters in chronically intermittent hypobaric hypoxia in rats, allowing us to settle a basal behavioral pattern and arrive at a possible research model for this condition. This long-term observation and exposure model points out that high altitudes affect survival and weight gain significantly. Also, the model displays adaptive changes close to chronic exposure in heart rate, hematocrit, and hemoglobin. However, the latter variables occupy an intermediate position, more benign than for chronic exposure, but indicating a strong influence as predictor variables for poor outcomes. Even though these findings are not easily translated to clinical settings, they indicate potential areas to be aware of.

Likewise, because the majority of either adaptation responses or biological changes start from the beginning, reaching a maximum and subsequently stabilizing in month 3, a longer observation period is not necessary.

ACKNOWLEDGMENT

We thank Gabriela Lamas for her technical assistance and invaluable dedication. This work was supported by grants from the Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile, and Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile.

REFERENCES

- Anezana A.M. (2003). Cardiovascular changes in chronic intermittent hypoxia, health and height. Proceedings of the 5th World Congress on Mountain Medicine and High Altitude Physiology. Universitat de Barcelona; pp. 151–155.
- Baker H.J., Lindsey J.R., and Webster S.H. (1979). *The Laboratory Rat*, Vol. 1–2. Academic Press, New York.
- Basu C.K., Gakam R.K., Sharma R.P., Kumar H., Tomar O.S., Sawhney R.C., and Selvamunhy W. (1996). Metabolic responses during initial days of altitude acclimatization in the eastern Himalayas. *Int. J. Biometeorol.* 39:133–138.
- Calbet J.A. (2003). Chronic hypoxia increases blood pressure and noradrenaline spillover in healthy humans. *J. Physiol.* 551:379–386.
- Calbet J.A., Radegran G., Boushel R., Sondergaard H., Saltin B., and Wagner P. (2002). Effect of blood haemoglobin concentration on $\dot{V}O_2$ max and cardiovascular function in lowlanders acclimatized to 5280 m. *J. Physiol.* 545:715–728.
- Garmack R., León-Velarde F., Valdes De La Barra R., Farías J., Soto G., and Richalet J.P. (2002). Effect of intermittent hypoxia on cardiovascular function, adrenoceptors and muscarinic receptors in Wistar rats. *Exp. Physiol.* 87:453–460.
- Hacken P.H. (2003). Acute mountain sickness and high altitude cerebral edema: a review for the practitioner, health and height. Proceedings of the 5th World Congress on Mountain Medicine and High Altitude Physiology. Universitat de Barcelona; pp. 9–22.
- Heistad D.D., and Abboud F.M. (1980). Circulatory adjustments to hypoxia. *Circulation.* 61:463–470.
- Jhons C., Gavras I., Handy D.E., Salomao A., and Gavras H. (1996). Model of experimental hypertension in mice. *Hypertension.* 28:1064–1069.
- León-Velarde F., Gamboa A., Chuquiza J.A., Escoba W.A., Rivera-Chira M., and Monge C. (2000). Hematological parameters in high altitude residents living at 4355, 4560, 5500 meters above sea level. *High Alt. Med. Biol.* 1:97–104.
- León-Velarde F., Soto G., Valdes de la Barra R., and Richalet J.P. (1999). Time course of cardiovascular responses to intermittent hypoxia (4600 m) in conscious rats. In: *Hypoxia: Into the Next Millennium*. R. Roach, P.D. Wagner, and P. Hacken, eds. *Advances Exp. Med. Biol.* pp. 474–483.
- McGuire M., and Bradford A. (1999). Chronic intermittent hypoxia increases haematocrit and causes right ventricular hypertrophy in the rat. *Respir. Physiol.* 117:53–58.
- Monge C., and León-Velarde F. (2003). *El reto fisiológico de vivir en los Andes*. Universidad Peruana Cayetano Heredia, editorial universitaria, Lima Perú.
- Morel O.E., Aubert R., Richalet J.P., and Chapelot D. (2005). Simulated high altitude selectively decreases protein intake and lean mass gain in rats. *Physiol. Behav.* 86:145–153.
- Myers W.S., and Ducker A.J. (1971). The excretion of catecholamines in rats during acute and chronic exposure to altitude. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 49:721–726.
- Reeves J., and León-Velarde F. (2004). Chronic mountain sickness: recent studies of the relationship between haemoglobin concentration and oxygen transport. *High Alt. Med. Biol.* 2:147.
- Richalet J.P. (1990). The heart and adrenergic system in hypoxia. In: *Hypoxia: The Adaptations*. J.R. Sutton, G. Coates, and J.E. Remmers, eds. Decker, Toronto and Philadelphia; pp. 231–240.
- Richalet J.P., Donoso M.V., Jimenez D., Anezana A.M., Handson C., Cones G., Osorio J., and León A. (2002). Chilean miners commuting from sea level to 4500 m: a prospect study. *High Alt. Med. Biol.* 3:159–166.
- Richalet J.P., Kacimi R., and Anezana A.M. (1992). The control of cardiac chronotropic function in hypobaric hypoxia. *Int. J. Sports Med.* 13:22–24.
- Rivera M., León-Velarde F., Huicho L., and Monge C. (1997). Bone marrow oxygen consumption and erythropoiesis in chronically hypoxic rats. *Life Sci.* 55:1027–1032.
- Rosenup M. (1998). Catecholamines, hypoxia and high altitude. *Acta Physiol. Scand.* 162:389–399.
- Ruiz-Arguñelles G.J., Sanchez-Medial L., Loria A., Piedras J., and Cordova M.S. (1980). Red cell indices in normal adults residing at altitudes from sea level to 2670 meters. *Am. J. Hematol.* 8:265–271.
- Vasquez R., and Villena M. (2001). Normal hematological values for healthy persons living at 4000 meters in Bolivia. *High Alt. Med. Biol.* 2:361–367.
- Wood S., Norboo T., Lilly M., Yoneda K., and Eldridge M. (2003). Cardiopulmonary function in high altitude residents of Ladakh. *High Alt. Med. Biol.* 4:445–454.

Address reprint requests to:

Patricia Siqués Lee

Instituto de Estudios de Salud, Universidad

Arturo Prat

Avenida Arturo Prat 2120, PO Box 223

Iquique, Chile

E-mail: psiques@ie.cl

Received August 18, 2005; accepted in final form November 2, 2005

Copia de carta de aceptación, Publicación N° :2

Dear Dr. Brito,

Thank you for sending us the revised manuscript. I am happy to inform you that this is now acceptable for publication. Thank you very much for submitting this article to *High Altitude Medicine & Biology*.

The Editorial Office has one requirement for the final version of the manuscript:

Manuscript #06-1043R

Title: Chronic Intermittent Hypoxia at High Altitude Exposure for Over 12 years: Assessment of Hematological, Cardiovascular, and Renal Effects

Authors: Julio Brito, Patricia Siqués, Fabiola León-Velarde, Juan José De La Cruz, Vasthi López, Rafael Herruzo

* glossy photographic prints of all figures will be required for reproduction purposes; send these via courier/express mail to:

John B. West, M.D., Ph.D.
UCSD Dept. of Medicine, MTF 208
9500 Gilman Dr.
La Jolla, CA 92093 USA
tel. +1.858.534.4192

Alternatively, EPS or TIF files are acceptable; these can be sent via e-mail to [<hamb@ucsd.edu>](mailto:hamb@ucsd.edu)

* indicate whether you are willing to pay charges for color reproduction of the figures at the rate of \$275 per piece of color art plus \$1,200 per page of color, or prefer to have them printed in black and white

Please send us the final version, via e-mail if possible, within one month, that is by April 4, 2007.

Best wishes,

John West

Chronic Intermittent Hypoxia at High Altitude Exposure for over 12 years: Assessment of Hematological, Cardiovascular and Renal Effects

Julio Brito^{1,2}, Patricia Siqués^{1,2}, Fabiola León-Velarde³, Juan José De La Cruz⁴, Vasthi López^{1,2}, Rafael Herruzo⁴

1 Instituto de Estudios de Salud, Universidad Arturo Prat, Chile 2 Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile

3 Departamento de Ciencias Biológicas, Fisiológicas. Facultad de Ciencias y Filosofía/IIA, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Peru

4 Departamento de Medicina Preventiva y Salud Publica, Universidad Autónoma de Madrid, Spain

Category: Original Research

Correspondence to: Julio Brito, Instituto de Estudios de Salud, Universidad Arturo Prat, Avda. Arturo Prat 2120, PO Box 223, Iquique, Chile.

Telephone: 56-57-453766. Fax: 56-57-453766.

E-mail: jbritor@tie.cl

Abstract

The aim of this cross-sectional study was to assess the health status of subjects weekly commuting between sea level and 3550 m altitude for at least 12 years (average 22.1 ± 5.8). We studied fifty healthy army men (aged 48.7 ± 2.0), working 4 days in Putre at 3550 m altitude and 3 days rest at sea level (SL) at Arica, Chile. Blood pressure, heart rate, SaO_2 and altitude symptoms (AMS score and sleep status) were measured at altitude (Days 1, 2 and 4) and at SL (Days 1, 2 and 3). Hematological parameters, lipid profile, renal function, and echocardiography were performed at SL on Day 1. The results showed signs of acute exposure to hypoxia (tachycardia, high blood pressure, low SaO_2), AMS symptoms and sleep disturbances on Day 1, which rapidly decreased on Day 2. In addition, echocardiographic findings showed pulmonary hypertension (PAPm $>25\text{mmHg}$, RV and RA enlargement) in 2 subjects (4%), a PAPm $>20\text{mmHg}$ in 14% and a right ventricle thickness $>40\text{ mm}$ in 12%. Hematocrit (45 ± 2.7) and hemoglobin (15 ± 1.0) were elevated but lower than in permanent residents. There was a remarkably high triglyceride level (238 ± 162) and a mild decrease of glomerular filtration rate (34% under 90 ml/min and 8% under 80 ml/min of creatinine clearance). In conclusion, in these preliminary results, in chronic intermittent hypoxia exposure, even over longer periods, most subjects still show symptoms of acute altitude illnesses but a faster recovery. Findings in triglycerides, in the pulmonary circulation and in renal function are also a matter of concern.

Key words: chronic intermittent hypoxia, hematocrit, triglycerides, pulmonary artery pressure, creatinine, acclimatization, acute mountain sickness.

Introduction

Chronic intermittent hypoxia (CIH) exposure at high altitude for long periods is a relatively recent biological, epidemiological and occupational condition. It differs from acute exposure (alpinism) or chronic condition (for people living at altitude), and also from other kinds of intermittent exposure such as sleep apnea or training purposes (Richalet et al., 2002).

This occupational condition implies a commuting system with a certain number of fixed working days at high altitude followed by a certain number of resting days at sea level, over several years. The frequency of these shifts can vary from 4 to 40 days. This occupational condition accounts for a wide range of activities, from mining to astronomical observatories and frontier works. In Chile, most of the working population is involved with mineral extraction, with 7-day average shifts, and this has an enormous impact on the Chilean economy.

Few studies have assessed this occupational situation in a comprehensive manner. The only comprehensive study has been performed on a cohort of miners with a two-year follow-up, in 7x7 commuting days shifts, working between 3800 and 4600m (Richalet et al., 2002); evaluating haematological, hormonal and cardiovascular parameters, also symptoms and sleep quality aspects in altitude. Nevertheless, some specific issues have been separately addressed, such as hematological and cardiovascular (Heinicke et al., 2003) and pulmonary hemodynamic by Doppler echocardiography in a cohort of 26 workers commuting between an elevation of 3700 and 4200m (4-week working shift) (Sarybaev et al., 2003), in different models of intermittent exposures.

Cross-sectional studies show a high level of hematocrit in Chilean residents at 3550m (Heinicke et al., 2003). Cohort studies in Chilean mine workers showed moderately high hematocrit, a slightly high blood

pressure, slight enlargement of the right ventricle (RV), acute mountain sickness (AMS) and sleep disorders, with no further modifications (Richalet et al., 2002). In another cohort of miners, mild hypoxic pulmonary hypertension at altitude resolved after low land staying was also observed (Sarybaev et al., 2003). Whether this last condition means permanent or reversible biological changes in human beings in the long term is still unknown.

No research or comprehensive studies have been published for longer periods of exposure (over 12 years) due to the difficulty of monitoring and following up on health status over such prolonged periods. Therefore, the aim of this study was to assess in a cross-sectional design, the biological and health status through some cardiovascular, hematological, and biochemical parameters in subjects belonging to the Army, who underwent an average of 25 years in a commuting system of 4 days at altitude, and 3 days resting at sea level, with the purpose of building the "natural history" of this kind of exposure.

Methodology

Population: Fifty army personnel, otherwise healthy, subjected to a health exam once a year, exposed to intermittent hypoxia for 12 years or more in a commuting fashion of 4 days at altitude (3550m) at Putre and 3 days at sea level (SL) at Arica, in Chile; were studied in a cross-sectional design.

Measures

General variables: age, weight, height, years of exposure to altitude, and smoking condition.

Cardiovascular: Systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured in the right arm of seated participants after a 5-min rest, using a sized cuff and a standard mercury sphygmomanometer. Heart rate (HR) and SaO₂ using a pulse oxymetry sensor (POX050, Medaid ®) were taken. For purposes of analysis, the average of three readings for each variable, taken at 2-min intervals, was used. Measurements were done at high altitudes: Days 1, 4 and at SL on Day 1. Subjects were their own controls at SL.

Echocardiography was performed at SL on Day 1, by cardiologists, using an M-Mode and Doppler echocardiograph Toshiba®, model sonolayer SSH14-0A. Subjects were examined in the standard position including four-chamber views. The mean pulmonary artery pressure (PAPm) was calculated according to the Kitabatake formula (Kitabatake et al, 1983). Abnormal PAPm was considered >20mm Hg and pulmonary hypertension (PH) in those meeting the following criteria: PAPm \geq 25 mm Hg, right ventricle (RV) and right atrium (RA) enlargement, according to the Venetia Symposium Consensus (McLaughlin, 2004) and ACCP Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (McGoon et al, 2004) criteria.

Symptoms of altitude: "Lake Louise AMS Score" test (Anonymous, 1992), was performed at altitude: Day 1 after sleeping one night in this condition (18 hrs after arrival), at Day 2 and at Day 4 (last day). This was repeated at SL on Day 1, 2 and 3 (last day). AMS was diagnosed when headache plus other symptoms occurred (Hackett, 2003). Similarly, the Spiegel modified questionnaire (Richalet et al., 2002) was used for the sleeping status.

Hematological and biochemical variables: A venous blood sample was taken without stasis, at SL on Day 1. An automatic hematological counter was used (Cell-dyn 3700, Technogen®, USA) for the red and white blood count, and for lipid determination, a specific kit (Chemelex®, Barcelona) for automatic multianalyzer (Selectron XL, Tecnigen®, USA) was used.

Renal function: A 24-h creatinine clearance was done, at SL on Day 1, using the Jaffe method for creatinine measuring and clearance calculated according to the formula of Crockcroft and Gault, 1976.

Medical records: The medical history of illnesses from the year of appearance was checked.

All participants had volunteered. They were briefed and then a consent form was signed. The design of this protocol had the approval of the Ethics Committee of *Universidad Arturo Prat*, Iquique, Chile.

Data analysis

The results were entered into a database and analyzed using SPSS, version 12.0. (SPSS, Inc., Chicago, Ill). The mean, standard deviation, standard error, and confidence intervals were calculated for each parameter. Normality was established using the Kolmogorov–Smirnov test. ANOVA for repeated measure statistical analysis was performed for HR, SBP, DBP and SaO₂, and for paired differences, a McNemar Chi-square test was used. Also, correlations between variables were done using Pearson's R. To observe associations between some dependent variables (dichotomized at pathological cut value) and significant ones after the bi-variant analysis, a multivariate logistic regression were performed. Results were presented as crude (mutually adjusted) odds ratio (OR) and 95% confidence intervals (CI). The significance level was established at p-value <0.05.

Results

The group had an average age of 48.7±06 years old and showed overweight in 66% of the cases. The average period of exposure to altitude was 22±5.8 years (50% have been 25 or more years in altitude). Table 1

Cardiovascular variables

Mean SBP at sea level and at high altitude are within the usual expected ranges for similar age population at SL. Nevertheless, an increase in the SBP on the first day of exposure to altitude was evident ($p<0.001$), recovering the SL values on Day 4 ($p<0.01$) and an intrasubject distribution by categories showing a high percentage of subjects (42%) with SBP over 130 mm Hg ($p<0.001$). DBP presents a similar behaviour, rising at altitude on Day 1 ($p<0.001$), and recovering the SL DBP value on Day 4 ($p<0.001$). Hypertension categories in intrasubject distribution show a lower percentage (20%) with a DBP over 90 mm Hg ($p<0.05$, Table 2).

Heart rate also rises, yet within usual ranges, on Day 1 at high altitudes ($p<0.001$), falling on Day 4 without recovering the SL value ($p<0.001$). SaO_2 show a significant fall on Day 1 ($p<0.001$) recovering on Day 4 ($p<0.001$), yet without reaching previous SL values. In 16% of subjects, SaO_2 was below 89% on day 1 at altitude. (Table 2)

Echocardiogram

Results at SL depicted the following findings: pulmonary hypertension (PH) in 4%, mean pulmonary artery pressure (PAPm) >20 mm Hg in 12%, nonphysiological tricuspid insufficiency (NPTI) in 48% and 12% with a right ventricle thickness (RVT) ≥ 40 mm (Table 3). The multivariate logistic regression analysis of the PAPm (cut value 25 mm Hg) – with all the significant variables, adjusted by tobacco - shows an association only with triglycerides, R^2 : 0.21, odds ratio (OR): 1.008 (1.002-1.014), $p<0.05$.

AMS and sleep

A higher score of AMS on Day 1 ($p<0.001$) is found, observing an incidence of 60% of AMS at high altitude, basically, of moderate form (40%) and almost disappearing on day 2. Those having AMS were 30 subjects with a mean Lake Louise score of 5.4 ± 0.42 points (range 2-10). Also, headache itself represents a very important symptom (66%) together with sleep disorders (66%, $p<0.001$), including 3 subject without AMS, Fig. 1. Additionally, a very weak correlation between SaO_2 and AMS score (r^2 0.096, p : 0.045) and sleep disturbance score (r^2 0.114, $p<0.05$) were found on day 1.

Hematology and biochemistry

A hematocrit (Hct) over 45% and hemoglobin (Hb) over 14 g/dL were observed in 60% of the subjects and only 6% of them present Hct values over 50%. Mean plasma creatinine is at up-borderline value (1.1 mg/dl), with 48% of the subjects with a higher value than normal (up to 1.1 mg/dl); 26% present creatinine clearance values in its lower limit (<90 ml/min), and an 8% have signs of slight renal damage (below 80 ml/min, Table 4).

Lipid profile reveals a high mean value of 238.0 mg/dl, for triglycerides (Normal Value up to 150 mg/dl) and a high proportion (60%) with values over 150 mg/dl, Table 4. The triglyceride multivariate logistic regression (cut value 150), with all the significant variables and adjusted by tobacco, show an association (r^2 : 0.25) and a predictive value, inversely with the SaO_2 on Day 1, OR 1.30 (1.013-1.677), ($p<0.05$) and positively with the cholesterol, OR 1.03 (1.005-1.055) ($p<0.05$).

Medical records

The most frequent diseases were Traumatism (22%), high blood pressure (HBP, 20%), and gastroduodenal ulcer (20%).

Discussion

This is the first comprehensive epidemiologic study that attempts to assess the health and biological statuses in a CIH population at high altitude for more than 12 years and reveals a persistent acute reaction to exposure, despite the elapsed years and an unexplained increase of triglycerides. Some objective findings of pulmonary circulatory abnormalities are: a diagnosed PH in 4%, a PAPm >20 mm Hg at rest (12%), NPTI (48%), RV thickness over 40mm. (12%). Also a slight compromise of the renal function is seen.

CIH would pose a challenge to acclimatization mechanisms, either in an acute or in a chronic phase to achieve a degree of acclimatization to this condition (Powell and Garcia, 2000). Our results suggest that this very long term CIH fails to ameliorate the acute mountain sickness with each ascent, and may have some mildly undesirable effects on the pulmonary circulation. These subjects do not become as acclimated as those of residents of high altitude (Monge and Leon-Velarde, 2003). Considering the results obtained, discussion was divided in acute response, long term response, and further biological and/or health consequences.

Acute acclimatization response

This research study shows an acclimatization pattern characterized by an initial impact and followed by a rapid normalization of the compromised parameters, from Day 2 onwards. This response is depicted on

the first day of the shift (Day 1) with a rise in the HR altogether along with the SBP and DBP, and a decrease in SaO₂ and a higher percentage of AMS than the reported in newcomers (34%) after 12 hours of arrival at altitude (Hackett, 2003) and a rather remarkable alteration of sleep quality. This initial response pattern resembles the acute exposure in sojourners as described by Hackett, 2003. However, the acclimatization response would be faster in the study group (from the second day onwards) and probably may be the acclimatization model of this chronically intermittent group.

The comparison between headache and sleep disorders behaviour at high altitudes and SL deserves special mention since headache (Hackett, 2003) and sleep (Weil, 2004) can be considered as tracer symptoms that may indicate hypoxia effects at high altitude. Although, similar features to those described in the current study were noticed by Richalet et al., 2002, it is emphasized that a higher incidence of these symptoms was noted -with an almost complete disappearance on Day 2 and an increased percentage of the symptoms occurring the day before the altitude shift began. The latter observation, may suggest a rather psychological phenomenon (preagonistic-like) and this tendency occurs more often in subjects that develop headache at altitude ($p < 0.05$, Fig. 1).

These results clearly show that in spite of the time elapsed (25 years); subjects still present an incomplete acclimatization. The reason for this phenomenon has not been described comprehensively in literature, and could be hypothesized that some "fast or short" mechanisms are lost at SL or may be absent under this exposure regime. Probably, the persistence of AMS with each ascent may indicate some loss of peripheral chemosensitivity over time of CIH comparable to that of high altitude long term residents, and a resulting gradual loss of hypoxic ventilatory drive upon arrival at altitude, consistent with the observed high incidence of low SaO₂ on day 1. The molecular underlying mechanisms for the above, ascribe a major role to redox-sensitive transcription factors as HIF-1 in activation of some specific genes (Prabhakar and Kline, 2002), but are beyond the scope of this epidemiological study and unfortunately HVR could not be measured.

On the other hand, surprisingly our results do not indicate that intermittent exposure may contribute to a decrease in the initial impact at altitude, especially AMS as has been described (Beidleman et al., 2004), at least in this long term 4x3 commuting regimen. Therefore, this lack of a proper acclimatization to the first day at altitude is outlined as an important issue to consider in labor health settings since a significant number of subjects will suffer from altitude effects.

Long-term acclimatization response

Long-term acclimatization under chronic exposure in natives and permanent residents show as main secondary effects: polycythemia, SBP decrease, high altitude pulmonary hypertension (HAPH), Monge's disease and renal function alteration (Monge and León-Velarde, 2003). For CIH, a moderate rise in the hematocrit, a slight dilation of the RV and a higher PAP have been described (Richalet et al., 2002; Sarybaev et al., 2003).

The changes in the variables shown in our study are coincident with the literature for intermittent exposure so far, yet there are also certain specific features to analyze. Thus, in most of the subjects, Hct and Hb reached a lower value (intermediate) than for residents at altitude over 4000m (Monge and León-Velarde, 2003) or for local natives (Heinicke et al., 2003), as similarly has been seen in our animal model in rats (Siqués et al., 2006). There is no permanent systemic hypertensive response, as it was foreseen accordingly to the mine workers cohort results (Richalet et al., 2002) and epidemiological reports which describe less systemic hypertension in chronic residents (Monge and León-Velarde, 2003). Moreover, the mean SBP in the studied group is lower than the average Chilean SBP for the same age and gender (139 ± 1.5 mmHg, MINSAL, 2003).

On the other hand, it is noticed certain biomedical changes in this group that could turn out as epidemiological concerns. Firstly, there are a great proportion of subjects with high levels of plasma triglycerides in comparison with the average value in a similar population at SL (175 mg/dl, MINSAL, 2003). Even though, this finding could reasonably be explained by the diet (3000 Kcal/daily), the statistical modelling shows no correlation with BMI, tobacco or age, but a correlation between triglycerides and SaO₂ Day 1, which could suggest some role of hypoxia (*per se*).

Higher values of triglycerides in high altitude residents than SL have also been reported (Cáceres et al., 1999) and also in intermittently exposed rats (Li et al., 2006), whereas some researchers report a fall in lipids and triglycerides after an exposure to hypobaric chamber (Tinkov and Aksenov, 2002). To explain high levels of plasma triglycerides, a hormonal influence in lipids and hypoxia has been described (Ferezou et al., 1988) and also a lesser use of triglycerides in energy production due to lower oxygen concentration (Murray et al., 2003).

Additionally, the Framingham score by categories (Wilson et al., 1998) to assess the cardiovascular risk showed a score of 4.6 ± 1.2 points with a relatively low average coronary heart disease (CHD) risk (event

risk: 8.6 ± 5.6). Also, when compared to the estimated risk for the Chilean population (10% of event risk) and stratifying by high and low risk groups, no differences are seen (MINSAL, 2003). Thus, CIH does not seem to bring about a special CHD risk in this group without including triglycerides in the equation.

Secondly, the renal function showed a slight compromise, where 48% of the subjects have plasma creatinine over 1.1 mg/dl, a 26% with a clearance under 90 ml/min, and a 8% under 80 ml/min. A decrease of renal clearance has been reported in the intermittency cohort study of Richalet et al., 2002, after two years and also a fall of glomerular filtration rate in the population under chronic exposure (Monge and León-Velarde, 2003). If this finding is proved to be consistent in further studies, then the measure of renal function should be considered in health assessments at high altitude conditions.

Pulmonary hypertension

Literature shows that chronic hypoxia can produce a cardiovascular remodelling of the pulmonary circulation generating HAPH (Peñaloza et al., 1963, León-Velarde et al., 2005). However, there is little published evidence on long term CIH. For less than three-year intermittency period, it is described as a slight enlargement of the RV (Richalet et al., 2002); and with 30 days of commuting, a rise in the PAPm at altitude -reversible at sea level (Sarybaev et al., 2003). Our results show a diagnosed PH (4% in the group), being a non expected higher prevalence when compared to the theoretical value in general population (0.02%) (Runo and Loyd, 2003). Also, as an issue to be considered further, we found other echocardiographic signs that suggest pulmonary hypertension: PAPm >20mm Hg at rest (12%), NPTI (48%), and RV thickness over 40 mm. (12%). Most of the subjects with higher levels of PAPm had less than 20 years at high altitude. Although these values were measured at sea level for logistic reasons and the lack of a control group may represent a weakness in our study, they do show an effect and if measured at altitude will probably be higher, as Sarybaev et al., 2003, outlined. The ranges of the PAP values found, seem to be equivalent to those described in similar altitudes (Hultgren et al., 1965) but lower than in higher altitudes (Peñaloza et al., 1963), yet some ethnic and individual differences may be involved (Sarybaev et al., 2003). Furthermore, the association of the elevated PAPm with triglycerides could be indicative of some contribution of the hypoxic condition as discussed before.

Therefore, this commuting system at high altitudes seems to have a remodelling or hypertensive effect into the pulmonary circulation of some subjects. Unfortunately, the timing of the study and the occupational conditions do not permit exploring if this effect is permanent or reversible. Finally, whether the responses described ultimately differ from those of permanent residents in high altitudes is a topic of an ongoing research.

Conclusions

This is a first comprehensive epidemiologic study of population working under a CIH commuting system for over 12 years at an altitude of 3550m (mostly >20 years). It is highlighted that in spite of the time elapsed, a great proportion of the population is acutely affected by hypoxia the first day, effect which is quickly compensated on Day 2, being a probable characteristic of this exposure model and may indicate some loss of peripheral chemosensitivity over time comparable to that of high altitude long term residents. Likewise, hematological parameters acquire an intermediate position compared to a chronic condition. The slight compromise of the renal function, the increase in triglycerides, and the presence of signs of PH turned out to be issues to be taken into account. Albeit the results of this study should be considered as preliminary results due to the lack of a control group, they contribute with additional information to build the "natural history" of this occupational condition. Also, echocardiography and renal function information in occupational health assessments, after a reasonable period of exposure at high altitude, may be important for the health management in this particular group.

Acknowledgments

We thank the Chilean army and all the volunteers for their unrestricted collaboration, Dr. Mario Gatica and Dr. Victor Criollo for their skilful cardiological assistance, and Master Sergeant Juan Delafuente for his invaluable work at field. This work was supported by grants from the Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile and the Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile.

References

- Anonymous. (1992). The Lake Louise Consensus on the definition and quantification of Altitude Illness. In: Hypoxia and mountain medicine. J. Sutton, G. Coates and C. Houston, eds. Queen City Press, Burlington, VT; pp. 327-330.
- Beidleman BA., Muza SR., Fulco CS., Cymerman A., Ditzler D., Stulz D., Staab JE., Skrinar GS., Lewis SF., and Sawka MN. (2004). Intermittent altitude exposures reduce acute mountain sickness at 4300 m. Clin Sci (Lond). 106:321-8.
- Caceres J., Rojas M., Caceres L., and Ortiz J. (2004). Colesterol total y sus fracciones en adultos de 30 a 39 años, según genero y sub-grupos de edad: Cusco. [in Spanish]. Situa 13:12- 19.
- Cockcroft DW, Gault MH. (1976). Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron; 16:31-41

Ferezou J., Richalet JP., Coste T., and Rathat C. (1988). Changes in plasma lipids and lipoprotein cholesterol during a high altitude mountaineering expedition (4800 m). *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 57:740-5.

Hackett PH. (2003). Acute mountain sickness and high altitude cerebral edema: a review for the practitioner. In: *Health and Height. Proceedings of the 5th World Congress on Mountain Medicine and High Altitude Physiology.* G Viscor and A Ricart, eds. Universitat de Barcelona. Spain; pp. 9–22.

Heinicke K., Prommer N., Cajigal J., Viola T., Behn C., and Schmidt W. (2003). Long-term exposure to intermittent hypoxia results in increased hemoglobin mass, reduced plasma volume, and elevated erythropoietin plasma levels in man. *Eur J Appl Physiol.* 88:535-43.

Hultgren HN., Kelly J., and Miller H. (1965). Pulmonary circulation in acclimatized man at high altitude. *J Appl Physiol.* 20:233-238.

Kitabatake A., Inoue M., Asao M., Masuyama T., Tanouchi J., Morita T., Mishima M., Uematsu M., Shimazu T., Hori M., Abe H. (1983). Noninvasive evaluation of pulmonary hypertension by a pulsed Doppler technique. *Circulation.* 68:302-9.

Leon-Velarde F., Maggiorini M., Reeves JT., Aldashev A., Asmus I., Bernardi L., Ge RL., Hackett P., Kobayashi T., Moore LG., Penaloza D., Richalet JP., Roach R., Wu T., Vargas E., Zubieta-Castillo G., and Zubieta-Calleja G. (2005). Consensus statement on chronic and subacute high altitude diseases. *High Alt Med Biol.* 6:147-57.

Li J., Bosch-Marce M., Nanayakkara A., Savransky V., Fried SK., Semenza GL., and Polotsky VY. (2006). Altered metabolic responses to intermittent hypoxia in mice with partial deficiency of hypoxia-inducible factor-1alpha. *Physiol Genomics.* 25:450-7.

McGoon M., Guterman D., Steen V., Barst R., McCrory DC., Fortin TA., and Loyd JE. (2004). Screening, early detection, and diagnosis of pulmonary arterial hypertension: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 126:14-34.

McLaughlin VV. (2004). Classification and epidemiology of pulmonary hypertension. *Cardiol Clin.* 22:327-41.

Ministerio de Salud de Chile (MINSAL). (2003) Encuesta Calidad de Vida [Health National Survey. [in Spanish]. MINSAL Eds., Santiago, Chile.

Monge C. and Leon Velarde F. (2003). El reto fisiológico de vivir en los Andes [in Spanish]. Universidad Peruana Cayetano Heredia Press, Lima, Perú.

Murray RK., Granner DK., Mayes PA., and Rodwell VW. (2003). Oxidation of Fatty Acids: Ketogenesis. In: *Harper's Illustrated Biochemistry* (26th Edition). Murray RK., Granner DK., Mayes P A., and Rodwell VW., eds. McGraw-Hill, NY; pp. 180 -190.

Peñaloza D., Sime F., Banchemo N., Gamboa R., Cruz J., and Marticorena E. (1963). Pulmonary hypertension in healthy men born and living at high altitudes. *Am J Cardiol.* 11:150–157.

Powell FL., and Garcia N. (2000). Physiological effects of intermittent hypoxia. *High Alt Med Biol.* 1:125-36.

Prabhakar NR, Kline DD. (2002). Ventilatory changes during intermittent hypoxia: importance of pattern and duration. *High Alt Med Biol.* 3:195-204.

Richalet JP., Donoso MV., Jimenez D., Antezana AM., Hudson C., Cortes G., Osorio J., and Leon A. (2002). Chilean miners commuting from sea level to 4500 m: a prospective study. *High Alt Med Biol.* 3:159-66.

Runo JR. and Loyd JE. (2003). Primary pulmonary hypertension. *Lancet.* 361:1533-44.

Sarybaev AS., Palasiewicz G., Usupbaeva DA., Plywaczewski R., Maripov AM., Sydykov AS., Mirrakhimov MM., Le Roux H., Kadyrov T., and Zielinski J. (2003). Effects of intermittent exposure to high altitude on pulmonary hemodynamics: a prospective study. *High Alt Med Biol.* 4:455-63.

Siques P., Brito J., Leon-Velarde F., Barrios L., Cruz JJ., Lopez V., and Herruzo R. (2006). Time course of cardiovascular and hematological responses in rats exposed to chronic intermittent hypobaric hypoxia (4600 m). *High Alt Med Biol.* 7:72-80.

Tin'kov AN. and Aksenov VA. (2002). Effects of intermittent hypobaric hypoxia on blood lipid concentrations in male coronary heart disease patients. *High Alt Med Biol.* 3:277-82.

Weil JV. (2004). Sleep at high altitude. *High Alt Med Biol.* 5:180-9.

Wilson PW., D'Agostino RB., Levy D., Belanger AM., Silbershatz H., and Kannel WB. (1998). Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation.* 97:1837-47.

Table 1: General characteristics of the studied group: Age (years). body mass index (BMI, kg/m²), years at altitude and smoking status (Yes/No). Values are mean \pm SD; proportion (%).

	$\bar{X} \pm SD$	Range	(%)
Age	48.7 \pm 2.0		
		<45	2
		45-50	78
		>50	20
BMI	26.3 \pm 2.3		
		20-24	34
		25-29	58
		30-34	8
Years at Altitude	22.1 \pm 5.8		
		13-14	12
		15-25	38
		>25	50
Smoker		Yes	52
		No	48

Table 2: Systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), heart rate (HR) and arterial oxygen saturation (Sa O₂), at SL and at Days 1 and 4 at altitude. Values are means \pm standard error (SE) and p-value (p).

	SL ($\bar{X} \pm SE$) (1)	Altitude D 1 ($\bar{X} \pm SE$) (2)	Altitude D 4 ($\bar{X} \pm SE$) (3)
SBP (mmHg).	122.1 \pm 1.2 <i>p</i> (1-3) NS	127.1 \pm 1.8 <i>p</i> (1-2) <0.001	122.9 \pm 1.3 <i>p</i> (2-3) <0.001
DBP (mmHg).	79.0 \pm 0.9 <i>p</i> (1-3) NS	83.8 \pm 1.3 <i>p</i> (1-2) <0.001	78.1 \pm 0.9 <i>p</i> (2-3) <0.001
HR (beats/min)	79.8 \pm 0.3 <i>p</i> (1-3) <0.001	82.6 \pm 0.4 <i>p</i> (1-2) <0.001	81.2 \pm 0.3 <i>p</i> (2-3) <0.001
SaO₂ (%)	99.8 \pm 0.08 <i>p</i> (1-3) <0.001	92.8 \pm 0.6 <i>p</i> (1-2) <0.001	96.6 \pm 0.5 <i>p</i> (2-3) <0.001

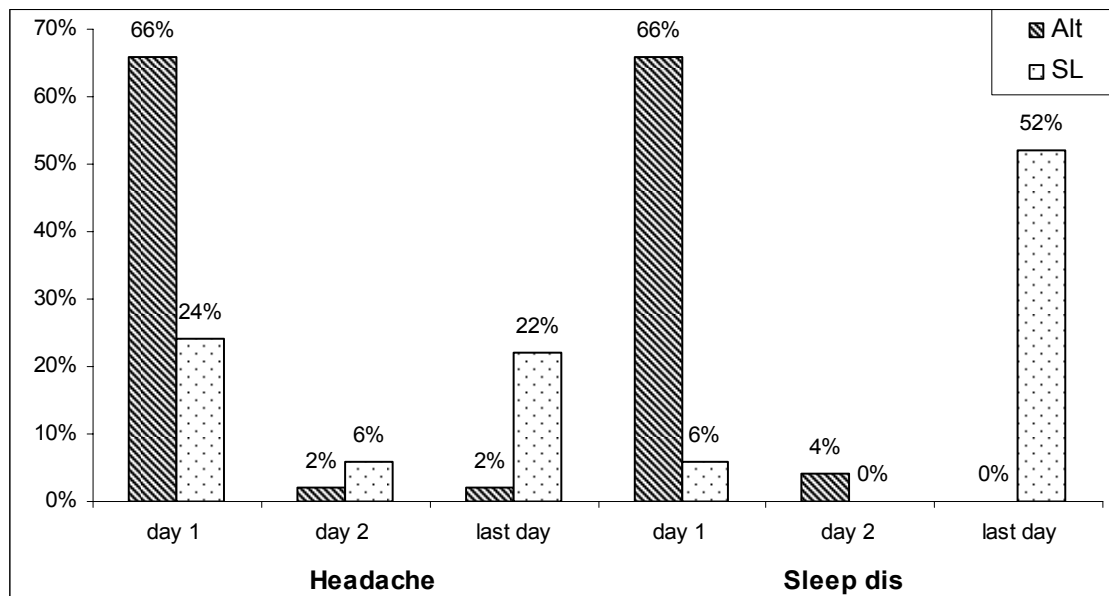
Table 3: Main echocardiographical findings: mean pulmonary artery pressure, mmHg (PAPm); nonphysiological tricuspid insufficiency presence (NPTI), right ventricle thickness, mm (RVT), and pulmonary hypertension presence (PH), Total subjects N=50. Values are number of subject with the attributes (n) and proportion (%).

Measures		n (%)
PAPm	> 20 mmHg	6 (12%)
RVT	≥ 40 mm	6 (12%)
NPTI		24 (48%)
PH		2 (4%)

Table 4: Hematological and biochemical measurements: Hematocrit (Hct), hemoglobin concentration (Hb), leukocytes count, total-cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, cholesterol/HDL ratio, plasma creatinine, creatinine clearance, Framingham score; values are means \pm SD.

	$\bar{X} \pm SD$
Hct (%)	45.02 \pm 2.7
HB (g/dl)	15.1 \pm 1.0
Leukocytes (per mm ³)	7480 \pm 1848
Total-cholesterol (mg/dl)	191.3 \pm 39.3
HDL-cholesterol (mg/dl)	40.2 \pm 6.7
LDL-cholesterol (mg/dl)	109.6 \pm 26.9
Triglycerides (mg/dl)	238.0 \pm 162.8
Chol/HDL	4.8 \pm 1.0
Creatinine (mg/dl)	1.1 \pm 0.1
Creatinine Clearance (ml/min)	96.8 \pm 19.8
Framingham (points)	4.6 \pm 1.2

Fig. 1: Comparison of proportions (%) of headache and sleeping disturbances at altitude and sea level on Days 1, 2, and last day (day 4 at altitude, and day 3 at SL).



Copia de carta de aceptación, Publicación N°:3

John West - HAM&B hamb@ucsd.edu

A: Patricia Siques <psiques@tie.cl>

Asunto: Acceptance of HAM&B ms#06-1044R

Enviado: Wed, 02 May 2007 15:55:18 -0700

Title: Hematological and lipid profile changes in sea level s young subjects after 8-month of high altitude chronic exposure.

Authors: Siqués, P., Brito, J., León-Velarde, F., Barrios, L., De La Cruz, J.J., López, V., Herruzo, R.

02/05/07

Dear Dr. Siques,

Thank you for sending us the revised manuscript. I am happy to inform you that this is now acceptable for publication. Thank you very much for submitting this article to *High Altitude Medicine & Biology*.

The Editorial Office has a few requirements for the final version of the manuscript:

* references in HAM&B format.

* glossy photographic prints of all figures will be required for reproduction purposes; send these via courier/express mail to:

John B. West,
M.D., Ph.D. UCSD Dept. of Medicine,
MTF 208 Jon Preimesberger

Senior Editor UCSD/HAM&B

Please send us the final version, via e-mail if possible, within one month, that is by June 4, 2007.

Best wishes,

John West
<www.liebertpub.com/ham/>
JW/acc

Hematological and lipid profile changes in sea level natives after exposure to 3550m altitude for 8 months.

Patricia Siqués^{1,2}, Julio Brito^{1,2}, Fabiola León-Velarde³, Luis Barrios¹, Juan José De La Cruz⁴, Vasthi López^{1,2}, Rafael Herruzo⁴

1 Instituto de Estudios de Salud, Universidad Arturo Prat, Chile 2 Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile

3 Departamento de Ciencias Biológicas, Fisiológicas. Facultad de Ciencias y Filosofía/ IIA, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Perú

4 Departamento de Medicina Preventiva y Salud Publica, Universidad Autónoma de Madrid, Spain

Category: Original Research

Correspondence to: Patricia Siqués Lee, Instituto de Estudios de Salud, Universidad Arturo Prat, Avda. Arturo Prat 2120, PO Box 223, Iquique, Chile.

Telephone: 56-57-453766. Fax: 56-57-453766.

E-mail: psiques@tie.cl

ABSTRACT

The aim of this epidemiological study was to determinate the effects on hematological and lipid profile in a young group of newcomers to altitude after being exposed chronically for 8 months to 3550m [(n=50), age 17.8±0.7 and not overweight (BMI 22.9±0.5)]. Readings taken at altitude on Day 1 and on the 8th month were: hematocrit (Hct, %), hemoglobin (Hb, g/dl), SaO₂, total leukocyte and subset count (mm³; %), and lipid profile (mg/dl). Same measurements were taken in a comparative group (CG) at sea level (SL). At altitude, an elevation of Hct (44.6±0.4; 51.2±0.4) and Hb (15.5±0.1; 17.3±0.1) were seen (p<0.001) and none with Hb ≥ 21 g/dl. No correlation was observed between Hb and SaO₂, r 0.11 p>0.05. Total leukocyte count showed no changes (6037±74; 6002±43), but a relative neutropenia (55.2±1.5; 50.6±1.3) and lymphocytosis (34.2±1; 42.4±1, p<0.001) between periods was found and also when compared to SL. An inverse relationship between SaO₂ and total leukocytes on the month 8th (r 0.46; r² 0.204), suggesting a probable representation of a hypoxia effect. Total cholesterol (153.8±4.5; 157.3±5.1; p:NS) showed no changes, but a decrease of LDL-cholesterol (88.4±3.3; 81.0±3.9; p<0.05), and a rise in triglycerides (121.6±10.9; 178.8±11.7; p<0.001). Changes observed in leukocytes subset count and triglycerides could suggest a contributory role of hypoxic conditions, raising some future epidemiological concerns regarding immune system and fatty acid behaviour at altitude.

KEY WORDS: Chronic hypoxia, altitude, hematocrit, hemoglobin, lipid profile, leukocytes, triglycerides, oxygen saturation.

INTRODUCTION

Epidemiological relevance of populations living at high altitude surge from the fact that only in South America nearly 35 million people are living at an altitude of over 2500m (León-Velarde et al., 2005). Furthermore, the increase in economic and frontier- control activities has fostered the increased settlement of young natives to high altitudes.

Hematological responses at altitudes have been established as the first-line research (Monge and Leon-Velarde, 2003), gathering much information regarding hematocrit and hemoglobin and its variation with the altitude and age of native or permanent residents (Reeves and Leon-Velarde, 2003). Lipid profile has been also investigated, though less thoroughly, for it is an important factor of cardiovascular risk. Also, even less investigated has been white blood cell count and subset count as an important representation of immune system activation (Thake et al, 2004). Nevertheless, such information implies response in either acute or more chronically exposures, which hardly could be extrapolated to this emerging population (very young sea level native newcomers to altitude).

Chronic exposure to altitude may result in pathological erythremias, chronic mountain sickness (5–10% prevalence on permanent residents), high-altitude pulmonary hypertension (León-Velarde et al., 2005) or changes in cardiovascular risk score parameters (LDL-cholesterol decrease and HDL-cholesterol increase) (Dominguez et al., 2000; Caceres et al., 2004). Additionally, it is well known that fatty acids are influenced in their metabolic process by hypoxia, and also modulated by hormonal influences, catecholamine and temperature (Vallerand and Jacobs, 1990; Ferozou et al., 1993).

Regarding a possible compromise of immunological function, it has been observed more acute respiratory diseases in acute exposures (Murdoch, 1995) and in intermittency even at two years of exposure in a steady fashion (Siqués and Brito, 2001). Studies for leukocytes as an immune system representation in chronic condition to our knowledge are scarce and they show a lymphocytosis (Ramos et al, 1971); existing more information for acute exposure which show an initial leukocytosis that tend to decrease over the time (Thake et al, 2004; Klokke et al, 1993).

Since there are rather few studies showing the initials responses in very young newcomers to high altitude concerning to the lipid profile and immune system representation, an epidemiological study was designed with the aim of determine the effects of chronic exposure to altitude on hematocrit, immune system representation through leukocytes and subset count and on fatty acid profile in young sea-level natives exposed for first time to a relative long term chronic hypoxia exposure (8-month period at 3550 m).

MATERIALS AND METHODS

Group under study

A random sample of 50 young male military recruits was taken; aged 17.8 ± 0.7 (range 16–19). They were exposed for the first time to altitude, staying for more than 8 months in Putre, Chile (3550 m), with a controlled diet (3.000 Kcal daily). The following parameters were measured: weight (W; Kg), height (m), blood pressure (BP, mmHg), heart rate (HR, beats/min), SaO_2 (%), hematocrit (Hct, %) and hemoglobin (Hb, g/dL), total leukocyte and subset count (mm^3 ; %) and lipid profile (mg/dl), at altitude on Day 1 (after sleeping one night and 10 hrs fasting) and on the 8th month (10 hrs fasting). Blood samples were processed the same day at a sea level laboratory.

Blood pressure was measured using a sized cuff and a standard mercury sphygmomanometer; the average of three measurements spacing the reading at 5-min intervals was recorded. Heart rate (HR) and SaO_2 were measured using a pulse oxymetry sensor (POX050, Medaid®). A venous blood sample was taken without stasis. For the red and white blood count, an automatic hematological counter was used (Cell-dyn 3700, Technicon®, USA), and for lipid determination, a specific kit (Chemelex®, Barcelona) for automatic multianalyzer (Selectron XL, Technicon®, USA) was used.

Comparative Group (CG).

Since to take baseline measurement was impracticable for the altitude group, a random sample of others 50 young male army recruits living at sea level, age 18.9 ± 0.6 (range 18–20), (BMI 23.3 ± 0.7), controlled diet (3.000 Kcal daily), never exposed to altitude and serving for 8 months in Iquique, Chile, was included in order to have SL values.

The subjects were volunteers. Methods were explained and consent forms were signed. The design of this protocol had the approval of the Ethics Committee of *Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile*.

Data analysis

The results were entered into a database and were analyzed using SPSS 12.0. (SPSS, Inc., Chicago, Ill). The mean, standard deviation, standard error and confidence interval were calculated for each parameter. The normality was established using the Kolmogorov–Smirnov test. Statistical analysis of the difference across testing conditions on time was established using T Test of related samples for normal variables and Wilcoxon test for non-normal ones. In addition, correlations were established using Pearson's correlation or Spearman's Rho, T test of independent samples was used to compare with CG.

An univariant linear regression for some studied variables and for deltas between periods as well was performed and significant variables were introduced in multiple lineal regression analysis, establishing an in-point of $p < 0.05$ and an out-point of $p < 0.10$. To observe associations between some dependent variables (dichotomized at pathological cut value) and significant ones after a bi-variant analysis, a multivariate logistic regression was performed. Results were presented as crude (mutually adjusted) Odds ratio (OR) and 95% confidence intervals (CI). The significance level was established at a p-value of < 0.05 .

RESULTS

Basal features of the studied group were rather homogeneous: very young individuals, age 17.8 ± 0.7 (range 16–19), without overweight (BMI 22.9 ± 0.5) unchanged at the end of the study (23.6 ± 0.5 , p NS), showing similar features to the CG (Age: 18.9 ± 0.6 ; BMI: 23.3 ± 0.7).

Additionally, to observe associations with hematological and metabolic variables under study, some cardiovascular parameters were measured. At altitude, measures on the first exposure (Day 1) were: SBP: 119.4 ± 1.2 , DBP: 77.4 ± 1.0 , HR: 97.4 ± 2.3 , and SaO_2 : 84.4 ± 0.6 . On Month 8th SBP showed no changes (118.1 ± 1.0 ; pNS), but DBP rose slightly (83.1 ± 1.0), with a HR significantly diminished (74.0 ± 0.9), and a SaO_2 recovered (91.2 ± 0.6); $p < 0.001$.

When compared to CG; SBP, DBP and HR, values found at altitude were in both periods higher than SL (109 ± 2.3 ; DBP: 72.3 ± 1.8 ; HR: 60.4 ± 1.3 ; $p < 0.001$), but SaO₂ was lower than SL (98.5 ± 0.1)

Hct at altitude, showed an increase from the initial value (44.6 ± 0.4) to month 8th (51.2 ± 0.4 , $p < 0.001$) with a similar change for Hb (15.5 ± 0.1 to 17.3 ± 0.1 , $p < 0.001$). CG values (Hct: 43.6 ± 0.5 and Hb 14.6 ± 0.3) were similar to Day 1 at altitude (p : NS) but lower than month 8th ($p < 0.001$). Intra-class analysis highlighted that only 6% of the subjects reached values \geq to 55% of Hct, 4% to Hb ≥ 19 g/dl and none to ≥ 21 g/dl. No correlation was observed between Hct or Hb and SaO₂, r 0.11 p NS. Multivariate lineal regression equation of the Hb deltas (dependent variable) showed an inverse correlation with the total cholesterol deltas, B -0.003, $p < 0.01$.

The total leukocyte count showed no changes in the altitude group. However, at month 8th the subset count did show differences in neutrophils, eosinophils, monocytes (decreasing), and lymphocytes (increasing) compared to the first day of hypoxia ($p < 0.001$, Table 1). No relationships were found between leukocyte and subset count with Hct, Hb, BP and HR.

However, an inverse correlation is found between SaO₂ and total leukocytes count at month 8th, r -0.452, r^2 0.204, $p < 0.01$ (Fig 1), and the latter also appearing as the only significant variable when a multiple linear regression is made for SaO₂ with all the variables studied. Likewise, a multiple logistic regression using 91% of SaO₂ as cut value shows an OR: 1.007 per 01 cell/mm³ leukocyte, $p < 0.001$. Given that, an OR for 100 cell/mm³ was calculated (OR: 2.05), then to fall in the lower saturation group is twofold more likelihood for every 100 cell/mm³ leukocyte increase.

When compared to CG (Table 3), total leukocyte count show no statistical differences, but neutrophils at altitude showed a mild lower proportion in both periods being more remarkable at month 8th ($p < 0.01$), while lymphocytes only show a difference at month 8th, with a higher proportion than SL.

The study of the lipid profile at altitude showed a non-significant increase in total cholesterol level (p NS), and a decrease of LDL cholesterol ($p < 0.05$) at month 8th. However, triglycerides rose to abnormal values (178.8 ± 11.7) in comparison with the first day in altitude ($p < 0.001$, Table 2).

Total cholesterol and HDL-cholesterol showed no differences between altitude and CG. However LDL-cholesterol presented lower proportion at altitude in both periods and triglycerides clearly show a higher value at altitude ($p < 0.001$)

In order to have an objective measure of cardiovascular risk, even though the subjects were very young, the Framingham equation by categories was used (Wilson et al., 1998) because including diastolic pressure and lipid profile were more suitable for this group. Initial score was (-0.22 ± 0.3) and on the 8th month was 0.58 ± 0.3 , $p < 0.01$, whereas, the cardiovascular event risk in both time periods remained under 1.

DISCUSSION

This epidemiological study conducted on very young individuals, newcomers to altitude, and chronically exposed to an altitude of 3550 m for 8 months, depicts a mild elevation of Hct and Hb, an increase in triglycerides and lymphocytes. Additionally, an association of total leukocytes on the month 8th with the SaO₂ value was found.

Initial cardiovascular responses revealed the impact of acute exposure (Day 1 at altitude), featured by a high HR and low SaO₂ as has been described for acute exposure in sojourners (Hackett, 2003). Even though, HR and SaO₂ show values close to those expected at that altitude at month 8th, to have a high DBP could suggest that these subjects are still under an acclimatization process, since some publications show that DBP should subtly decrease (Marticorena et al., 1969; Monge and Leon-Velarde, 2003).

Hematocrit and haemoglobin

In chronic hypobaric hypoxia, hematological values (Hct and Hb) play a pivotal role as an acclimatization marker and a disease predictor (Villafuerte et al., 2003; Reeves and Leon-Velarde, 2004; Siqués et al., 2006), showing a great variability of these values accordingly to altitude and age (Garutto and Dutss, 1983; Leon-Velarde et al., 2000; Villafuerte et al., 2003).

In this study, Hct and Hb show an elevation within ranges as reported for Andean populations in similarly age groups (Leon-Velarde et al., 2000; Vasques and Villena, 2001; Heinicke et al., 2003) and for closer ages (Winslow et al., 1989), achieving non-pathological levels probably explained for age and the exposure period.

Likewise, the relationship between Hb levels and SaO₂ has been thoroughly studied due to its close relationship with the ability of the individual to respond to hypoxic conditions (Monge and Leon-Velarde, 2003). Also, several authors have found a correlation between Hb and SaO₂ (Reeves and Weil, 2001; Wood et al., 2003; Monge and Leon-Velarde, 2003), pointing out an efficiency range of Hb (15–18 mg/dl) and that higher values do not improve oxygen transportation (Villafuerte et al., 2003; Reeves and Leon-Velarde, 2004). Results obtained from this study do not show this correlation $r = 0.11$ (p NS), which may be attributed to a narrow range of saturation variation with a leptokurtic distribution (non-normal), whereas a chronic and older population, such as that in Cerro de Pasco, achieves more variability (normal distribution, Fig. 2; Leon-Velarde et al., 1991). Moreover, some sample differences may contribute to this result, such as a rather young subject, within a very narrow age range (for this group, age becomes a control variable), healthy, with a short exposure period, and with saturations over the expected values for that altitude (Hackett and Roach, 1995). Furthermore, age itself would explain a large part of this result, because lower Hb and better ventilatory responses are expected in this population (Leon-Velarde et al., 2000; Reeves and Weil, 2001; Monge and Leon-Velarde, 2003). Nevertheless, a high Hb-level variability within non-pathological values for the same saturation range was demonstrated herein, similarly as has been reported by Reeves and Leon-Velarde, 2004.

Additionally, a weak relationship between Hb deltas with cholesterol deltas $B = -0.003$ is seen and it could add more information to the discussion about lipid utilization and the influence of oxygen. In fact, a relationship between Hct and cholesterol has been described (Böttiger and Carlson, 1972; Temte, 1996).

Leukocytes

The study of the changes in leukocytes and subset count in hypoxia, as a representation of the immune system activation, has received less attention than Hct and Hb (Thacke et al, 2004), probably due to the multiple factors involved in its behaviour, making difficult to discriminate or ascribe to an specific variable (Dhabhar et al., 1996). Nevertheless, in high altitudes, a modification of this important "immunological representation" is presumably expected, since it has been described a significantly higher incidence of respiratory diseases in hikers (Murdoch, 1995) and in miners undergoing chronic intermittent hypoxia (Siques and Brito, 2001). Moreover, the combination of altitude (environment) and hypoxia should represent a powerful stressor (Thacke et al, 2004).

Most of the studies, in short or acute exposures, show an initial leukocytosis followed by a relative neutropenia and lymphopenia. Such effects are modulated by stress hormones (catecholamine and cortisol) (Richalet et al., 1989; Klokke et al., 1993) and probably with a ventilation influence (Thacke et al, 2004). For chronic hypoxia, limited information, diverse methodologies and exposures make further comparisons a difficult attempt. Such results go from a leukocyte subset count alteration at altitude (Facco et al., 2005), through values within normal ranges decreasing when subjects descend to sea level (Ramos et al., 1971) to no effects (Beidleman et al., 2006).

The current study depicts no changes in altitude regarding the total leukocyte count, but a lymphocytosis and a relative neutropenia (clinical illness discarded) compared to initial measurement and CG. Besides, it turned out of interest and rather new to observe a moderate inverse correlation between SaO₂ and total leukocytes count at month 8th and also an association for the latter in both lineal and logistic multiple logistic regression. Whether these findings are the manifestation of a chronic phenomenon (inflammation) or an ongoing acclimatization can not be answered in this epidemiological research. However these results, in spite of the limitations (Intrasubject variability, environmental factors and first sample taken in acute exposure), suggest an exposure influence on leukocytes response with an potential alteration of immune system representation as has been described in acute hypoxia (Thacke et al, 2004). Likewise, they raise some concerns about the possible consequences of this immune system alteration in chronic hypoxia at clinical settings.

Lipid profile

Plasma lipids and their relationship with altitude has been studied from an epidemiological point of view to assess its influence in cardiovascular risk, since altitude would raise HDL-cholesterol and decrease LDL-cholesterol (Sharma, 1990; Domínguez Coello et al, 2000, Caceres et al., 2004; Cabrera de Leon et al., 2004). In the literature, a great variability in results is observed: from an increase in cholesterol (total and fractions) (Jha et al., 2002; Temte, 1996; Baibas et al., 2005) to similar or lower values than sea level (Rotta et al., 1996; Caceres et al., 2004; Tin'kov and Aksenov, 2002) which added to the diversity in populations, altitudes and exposures, turn out comparisons a difficult attempt (Table 4).

In general, most of the published works tend to coincide in total cholesterol and its fractions values within normal ranges or lower than SL and a positive relationship with age. Regarding triglycerides, some authors find higher values than sea level, not necessarily pathological (Caceres et al., 2004), though lower ones are observed in acute hypoxia (Ferezou et al, 1988).

Our findings show no changes in serum plasma total cholesterol values at altitude, being similar to the CG and the Chilean population (Chilean National Health Survey: male, age 17-24; Total cholesterol: 153, HDL-cholesterol: 43.5, LDL-cholesterol: 92.2 and triglycerides: 105.1; MINSAL 2003), but slightly lower than literature at altitude reports (table 4). However, it should be mentioned a modest decrease in LDL-cholesterol at altitude reaching lower values than CG and Chilean population, coincidentally with some reports concerning populations living in altitude (Sharma, 1990; Caceres et al, 2004).

The triglycerides increase presents no correlation with the BMI or total cholesterol, as has been described, and the values found are significantly higher than CG (same caloric intake) and for a similar Chilean population (MINSAL, 2003), which could be pointing out a more straightforward influence of hypoxia. The relationship between hypoxia and triglyceride catabolism and its circulating level has been found in acute and intermittent hypoxia as a result of an alteration in lipid oxidation and the low triglyceride hydrolases activity at hepatic level (Ferezou et al, 1988; Muratsubaki et al., 2003), mediated by HIF-1 α (Li et al., 2006). Similarly, temperature has been suggested as being a factor in a greater triglyceride breakdown in the muscle and in adipose tissues (Vallerand and Jacobs, 1990). Both conditions (hypoxia and temperature) may be either summed up or synergized at altitude, and if a trend to an elevated plasmatic triglycerides value at altitude would exist, as this research and some reports show, it certainly creates a new epidemiological concern.

Additionally, cardiovascular risk was assessed using the Framingham equation by categories, even in young men under 20 years old the risk is less than 1% (Wilson et al., 1998), only with the purpose of providing a comparable parameter in the future, finding a significant increase in rather low scores without an increase the relative risk. The young age of the subjects have limited to attempt any conclusion of this result but it seems quite important to emphasize the need to develop a tailored equation to assess cardiovascular risk in populations living at altitudes, as it has been pointed out in other epidemiological studies (Domínguez Coello et al., 2000).

CONCLUSION

This epidemiological study depicts the changes in Hct, white blood cell count and lipid profile in a very young group of newcomers to altitude after being exposed chronically for 8 months to 3550m. A mild elevation of hematocrit and hemoglobin, a relative neutropenia, lymphocytosis, a discreet LDL-cholesterol decrease and triglycerides increase, were appreciated. No correlation between SaO₂ and Hb, as previously described, was found, but an association between the total leukocytes count and the SaO₂ value was observed. Notwithstanding that the extreme young age of subjects could explain some of these findings, the fact of being different to SL comparative group, could suggest these changes as a result of a contributory role of hypoxic conditions and raising some future epidemiological concerns regarding immune system and fatty acid behaviour at altitude. Also, they could represent the acclimatization process to chronic hypoxia of this kind of population.

ACKNOWLEDGMENT

We thank the Chilean Army for their unrestricted collaboration; and Master Sergeant Juan Delafuente and Gabriela Lamas for their invaluable assistance. This work was supported by grants from the Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile and the Centro de Investigaciones del Hombre en el Desierto, Chile.

REFERENCES

- Baibas N., Trichopoulou A., Voridis E., and Trichopoulos D. (2005). Residence in mountainous compared with lowland areas in relation to total and coronary mortality. A study in rural Greece. *J Epidemiol Community Health*. 59: 274-8.
- Beidleman BA., Muza SR., Fulco CS., Cymerman A., Staab JE., Sawka MN., Lewis SF., and Skrinar GS. (2006). White blood cell and hormonal responses to 4300 m altitude before and after intermittent altitude exposure. *Clin Sci (Lond)*. 111: 163-9.
- Bottiger LE. And Carlson LA. (1972). Relation between serum cholesterol and triglyceride concentration and haemoglobin values in non-anaemic healthy persons. *Br Med J*. 3:731-3.
- Caceres J., Rojas M., Caceres L., and Ortiz J. (2004). Colesterol total y sus fracciones en adultos de 30 a 39 años, según género y sub-grupos de edad: Cusco. (in Spanish). *Situa*. 13: 12-19.
- Dhabhar FS., Miller AH., McEwen BS., and Spencer RL. (1996). Stress-induced changes in blood leukocyte distribution. Role of adrenal steroid hormones. *J Immunol*. 157:1638-44.
- Domínguez Coello S., Cabrera De Leon A., Bosa Ojeda F., Perez Mendez LI., Diaz Gonzalez L., and Aguirre-Jaime AJ. (2000). High density lipoprotein cholesterol increases with living altitude. *Int J Epidemiol*. 29:65-70.
- Facco M., Zilli C., Siviero M., Ermolao A., Travain G., Baesso I., Bonamico S., Cabrelle A., Zaccaria M., and Agostini C. (2005). Modulation of immune response by the acute and chronic exposure to high altitude. *Med Sci Sports Exerc*. 37:768-74.

Ferezou J., Richalet JP., Coste T., and Rathat C. (1988). Changes in plasma lipids and lipoprotein cholesterol during a high altitude mountaineering expedition (4800 m). *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 57:740-5.

Garruto RM. And Dutt JS. (1983). Lack of prominent compensatory polycythemia in traditional native Andeans living at 4,200 meters. *Am J Phys Anthropol.* 61:355-66.

Hackett PH. (2003). Acute mountain sickness and high altitude cerebral edema: a review for the practitioner. In: *Health and Height. Proceedings of the 5th World Congress on Mountain Medicine and High Altitude Physiology.* G Viscor and A Ricart, eds. Universitat de Barcelona, Spain; pp. 9–22.

Hackett PH. and Roach RC. (1995). High-Altitude Medicine. In: *Wilderness Medicine*, 3rd ed. Auerbach PS (ed); Mosby, St. Louis, USA; pp. 1-37.

Heinicke K., Prommer N., Cajigal J., Viola T., Behn C., and Schmidt W. (2003). Long-term exposure to intermittent hypoxia results in increased hemoglobin mass, reduced plasma volume, and elevated erythropoietin plasma levels in man. *Eur J Appl Physiol.* 88:535-43.

Jha SK., Anand AC., Sharma V., Kumar N., and Adya CM. (2002). Stroke at high altitude: Indian experience. *High Alt Med Biol.* 3:21-7.

Klokke M., Kharazmi A., Galbo H., Bygbjerg I., and Pedersen BK. (1993). Influence of in vivo hypobaric hypoxia on function of lymphocytes, neutrocytes, natural killer cells, and cytokines. *J Appl Physiol.* 74:1100-6.

Leon-Velarde F, Monge CC, Vidal A, Carcagno M, Criscuolo M, Bozzini CE. (1991). Serum immunoreactive erythropoietin in high altitude natives with and without excessive erythrocytosis. *Exp Hematol.* 19:257-60.

Leon-Velarde F., Gamboa A., Chuquiza JA., Esteba WA., Rivera-Chira M., and Monge C. (2000). Hematological parameters in high altitude residents living at 4,355, 4,660, and 5,500 meters above sea level. *High Alt Med Biol.* 1:97-104.

Li J., Bosch-Marce M., Nanayakkara A., Savransky V., Fried SK., Semenza GL., and Polotsky VY. (2006). Altered metabolic responses to intermittent hypoxia in mice with partial deficiency of hypoxia-inducible factor-1 α . *Physiol Genomics.* 25:450-7.

Martcorena E., Ruiz L., Severino J., Galvez J., and Penaloza D. (1969). Systemic blood pressure in white men born at sea level: changes after long residence at high altitudes. *Am J Cardiol.* 3:364-8.

Ministerio de Salud de Chile (MINSAL). (2003) Encuesta Calidad de Vida [Health National Survey. [in Spanish]. MINSAL Eds., Santiago, Chile.

Monge C.C. and León-Velarde F (2003). El Reto Fisiológico de Vivir en los Andes. Tomo 177. Travaux del Institut Francais d'Etudes Andines (IFEA). Editores, IFEA/ Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Peru.

Muratsubaki H., Enomoto K., Ichijoh Y., and Yamamoto Y. (2003). Hypertriglyceridemia associated with decreased post-heparin plasma hepatic triglyceride lipase activity in hypoxic rats. *Arch Physiol Biochem.* 111:449-54.

Murdoch DR. (1995) Symptoms of infection and altitude illness among hikers in the Mount Everest region of Nepal. *Aviat Space Environ Med.* 66:148-51.

Olivera AA. and Diaz N. (1971). Niveles sericos de lipidos, colesterol y proteinas en residentes de costa y altura. (In Spanish) *Bol Soc Quim Peru.* 37:182-193.

Ramos J; Anduaga G; Reynafarje C; Lopez F. (1971). Variaciones leucocitarias en sujetos nativos de las grandes alturas que descienden a nivel del mar. (In Spanish). *Arcb Inst Biol Andina Lima.* 4:38-43

Reeves JT. and Leon-Velarde F. (2004). Chronic mountain sickness: recent studies of the relationship between hemoglobin concentration and oxygen transport. *High Alt Med Biol.* 5:147-55.

Reeves JT. and Weil JV. (2001). Chronic mountain sickness. A view from the crow's nest. *Adv Exp Med Biol.* 502:419-37.

Richalet JP., Rutgers V., Bouchet P., Rymer JC., Keromes A., Duval-Arnould G., and Rathat C. (1989). Diurnal variations of acute mountain sickness, colour vision, and plasma cortisol and ACTH at high altitude. *Aviat Space Environ Med.* 60:105-11.

Rotta A.; Morales S.G., and Battilana G. (1965). Valores de colesterol sanguíneo y de presión arterial en sujetos sanos, de nivel del mar y de la altura. Reporte preliminar. (In Spanish). *Rev Peru Cardiol.* 12: 9-15.

Sharma S. (1990). Clinical, biochemical, electrocardiographic and noninvasive hemodynamic assessment of cardiovascular status in natives at high to extreme altitudes (3000m-5500m) of the Himalayan region. *Indian Heart J.* 42:375-9.

Siqués P. and Brito J. (2001). Trabajo a gran altura intermitente: Nueva situación epidemiológica. [In Spanish]. Universidad Arturo Prat, Iquique, Chile.

Siques P., Brito J., Leon-Velarde F., Barrios L., Cruz JJ., Lopez V., and Herruzo R. (2006). Time course of cardiovascular and hematological responses in rats exposed to chronic intermittent hypobaric hypoxia (4600 m). *High Alt Med Biol.* 7:72-80.

Temte JL. (1996) Elevation of serum cholesterol at high altitude and its relationship to hematocrit. *Wilderness Environ Med.* 1996 7:216-24.

Thake CD., Mian T., Garnham AW., and Mian R. (2004). Leukocyte counts and neutrophil activity during 4 h of hypocapnic hypoxia equivalent to 4000 m.. *Aviat Space Environ Med.* 75:811-7.

Tin'kov AN. and Aksenov VA. (2002). Effects of intermittent hypobaric hypoxia on blood lipid concentrations in male coronary heart disease patients. *High Alt Med Biol.* 3:277-82.

- Vallerand AL. and Jacobs I. (1990). Influence of cold exposure on plasma triglyceride clearance in humans. *Metabolism*. 39:1211-8.
- Vasquez R. and Villena M. (2001). Normal hematological values for healthy persons living at 4000 meters in Bolivia. *High Alt Med Biol*. 2:361-7.
- Villafuerte FC., Cardenas R., and Monge-CC. (2003). Optimal hemoglobin concentration and high altitude: a theoretical approach for Andean men at rest. *J Appl Physiol*; 96:1581-8.
- Wilson PW., D'Agostino RB., Levy D., Belanger AM., Silbershatz H., and Kannel WB. (1998). Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 97:1837-47.
- Winslow RM., Chapman KW., Gibson CC., Samaja M., Monge CC., Goldwasser E., Sherpa M., Blume FD., and Santolaya R. (1989). Different hematologic responses to hypoxia in Sherpas and Quechua Indians. *J Appl Physiol*. 66:1561-9.
- Wood S., Norboo T., Lilly M., Yoneda K., and Eldridge M. (2003). Cardiopulmonary function in high altitude residents of Ladakh. *High Alt Med Biol*. 4:445-54.

Table 1: Total leukocytes (mm³) and subset count (%); Day 1 and Month 8th at altitude. Means (\bar{X}), \pm standard error (SE) and p values.

	Day 1 $\bar{X} \pm \text{SE}$	Month 8 th $\bar{X} \pm \text{SE}$	p
Total leukocyte count (mm ³)	6037 \pm 73.6	6002 \pm 43.8	0.680
Neutrophils (%)	55.2 \pm 1.5	50.6 \pm 1.3	0.003
Eosinophils (%)	4.1 \pm 0.3	2.6 \pm 0.3	<0.001
Basophils (%)	0.1 \pm 0.04	0.0	
Monocytes (%)	6.4 \pm 0.3	4.7 \pm 0.2	<0.001
Lymphocytes (%)	34.2 \pm 1.4	42.4 \pm 1.2	<0.001

Table 2: Day 1 and Month 8th lipid profile, at altitude; total cholesterol (mg/dl), HDL-cholesterol (mg/dL), LDL-cholesterol (mg/dl) and triglycerides (mg/dl). Means (\bar{X}), \pm standard error (SE) and p values.

	Day 1 $\bar{X} \pm \text{SE}$	Month 8 th $\bar{X} \pm \text{SE}$	p
Total cholesterol (mg/dl)	153.8 \pm 4.5	157.3 \pm 5.1	0.361
HDL- cholesterol (mg/dl)	40.5 \pm 1.2	40.7 \pm 1.2	0.866
LDL- cholesterol (mg/dl)	88.4 \pm 3.3	81.0 \pm 3.9	0.044
Triglycerides (mg/dl)	121.6 \pm 10.9	178.8 \pm 11.7	<0.001
Cholesterol/HDL	3.9 \pm 0.1	3.7 \pm 0.1	0.931
HDL/LDL	0.49 \pm 0.03	0.54 \pm 0.03	0.071

Table 3: SL comparative group values: Total leukocytes and subset (mm³, %) and lipid profile: Total cholesterol (mg/dl), HDL-cholesterol (mg/dL), LDL-cholesterol (mg/dl) and triglycerides (mg/dl). Means (\bar{x}) \pm standard error (SE).

	$\bar{x} \pm SE$
Total leukocyte count (mm ³)	7355 \pm 85.2
Neutrophils (%)	61.9 \pm 1.1
Eosinophils (%)	1.5 \pm 0.2
Basophils (%)	0.1 \pm 0.07
Monocytes (%)	2.3 \pm 0.2
Lymphocytes (%)	34.2 \pm 1.1
Total cholesterol (mg/dl)	167.9 \pm 3.9
HDL- cholesterol (mg/dl)	42.1 \pm 1.0
LDL- cholesterol (mg/dl)	111.1 \pm 3.0
Triglycerides (mg/dl)	73.8 \pm 8.5
Cholesterol/HDL	3.9 \pm 0.1
HDL/LDL	0.38 \pm 0.04

Table 4: Revision of lipid profile values according to geographical location, sample, age, type of exposure, altitude, reference and variables (Total cholesterol (mg/dl), HDL-cholesterol (mg/dl), LDL-cholesterol (mg/dl) and triglycerides (mg/dl).

Region	Sample	Altitude (m)	Reference	Variables	Means \pm SD
France	Mountaineers, acute, 3 weeks 28 – 39 years old; n = 8	4800	Ferezou et al., 1988	Total cholesterol HDL- cholesterol LDL- cholesterol Triglycerides	143.8 \pm 9.5 52.1 \pm 4.8 82.7 \pm 5.4 51.5 \pm 7.2
Peru (Morocha)	Natives of altitude 20 – 69 years old; n = 206	4540	Rotta et al., 1965	Total cholesterol	182.4 \pm 36
India	10.2 months, soldiers with stroke < 45 years old; n = 30	Over 4000	Jha et al., 2002	Total cholesterol	186.5
Chile (Putre)	Newcomers, chronic altitudes, 8 months, 16 -19 years old, n=50	3550	Current study	Total cholesterol HDL- cholesterol LDL- cholesterol Triglycerides	157.3 \pm 5.1 40.7 \pm 1.2 81.0 \pm 3.9 178.8 \pm 11.7
Russia	Intermittent exposure, hypobaric chamber coronary patients, 10 months 36 – 68 years old; n = 37	3500	Tin'kov and Aksenov, 2002	Total cholesterol HDL- cholesterol LDL- cholesterol Triglycerides	200.3 \pm 4.6 49.9 \pm 1.9 137.3 \pm 5.4 146.1 \pm 7.9
Peru (Cuzco)	Permanent residents 20 – 29 years old; n = 120	3350	Caceres et al., 2004	Total cholesterol HDL- cholesterol LDL- cholesterol Triglycerides	179.9 \pm 14.9 51.1 \pm 3.2 100.7 \pm 13.7 116.3 \pm
USA (Leadville)	Permanent residents X age: 44 \pm 7; n = 153	3105	Temte, 1996	Total cholesterol HDL- cholesterol LDL- cholesterol Triglycerides	190 \pm 3 46.5 \pm 1.5 111 \pm 3.1 172 \pm 7.1
Peru (Cajamarca)	4 or more years of residence 18 -28 years old; n= 120	2800	Olivera and Diaz,1971	Total cholesterol	210.6 \pm 3.5

Fig 1. Relationship of total leukocyte count (mm^3) to hemoglobin oxygen saturation (SaO_2) at month 8th at 3550 m, Putre, Chile $p < 0.01$.

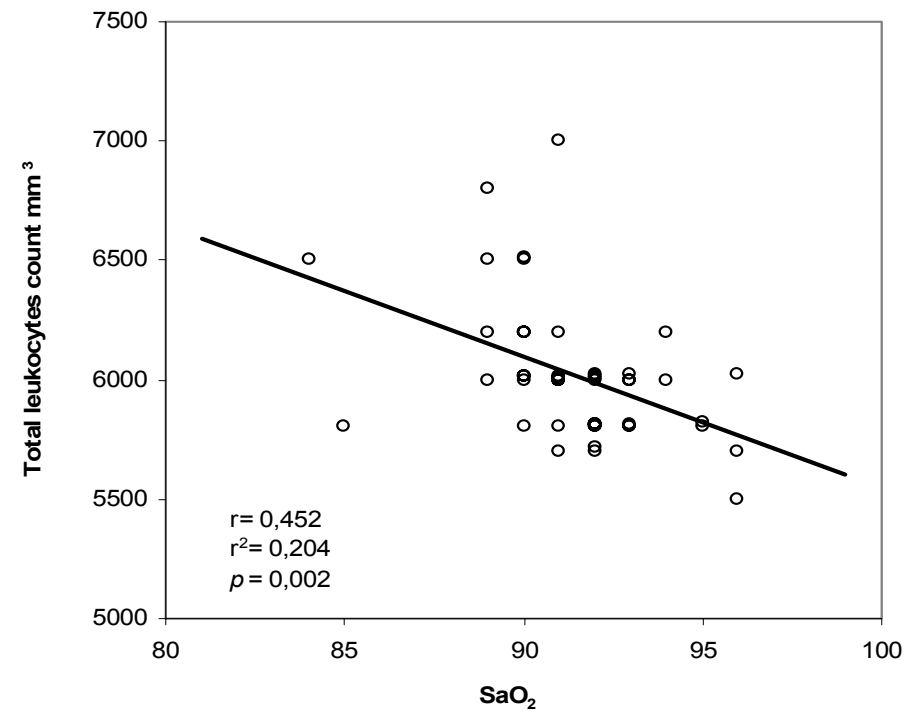


FIG. 2: Comparative distributional curves of SaO_2 proportions, current study (Putre, 3550m, month 8th) and Cerro de Pasco, Peru (4338m; Leon-Velarde et al., 1991).

